

Massenspektrometrische Untersuchungen, XIV<sup>1)</sup>

## Einfluß aromatischer Aminosäuren auf die Elektronenstoß-Fragmentierung von *N*-Acetyl-peptiden

von *Hans-Friedrich Grützmacher* \*) und *Kurt Heyns*

Aus dem Chemischen Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg  
Eingegangen am 4. März 1966

---

Die Massenspektren von acetylierten Di- und Tripeptiden des Phenylalanins, Tyrosins, Histidins und Tryptophans werden diskutiert. Der Einfluß der aromatischen Seitenkette auf den Zerfall des Acetylpeptids steigt in der Reihe Phenylalanin < Histidin < Tyrosin < Tryptophan stark an und führt wie bei den Acetylaminosäuren zu intensiven Fragmenten der Typen **R** und **G**. Eine einfache Sequenzanalyse ist nur bei den Peptiden des Phenylalanins oder bei *C*-terminaler Position der übrigen Aminosäuren in den Peptiden möglich.

---

Über die massenspektrometrische Sequenzanalyse von acylierten Peptiden und Peptidestern ist in den letzten Jahren mehrfach berichtet worden. Neben den von uns eingehend untersuchten *N*-Acetyl-peptiden<sup>2-4)</sup> haben vor allem *Weygand* und Mitarbeiter<sup>5)</sup> die Massenspektren von Trifluoracetyl-peptid-methylestern ausführlich beschrieben. Die Mehrzahl der bisher massenspektrometrisch untersuchten Peptide enthielt nur einfache aliphatische Aminosäuren, die besonders übersichtliche Fragmentierungsmuster gaben. Im folgenden Formelschema sind die Fragmentierungsreaktionen zusammengestellt, die zu den charakteristischen intensiven Peaks führen.

Das Fragmentierungsmuster einfacher *N*-Acetyl-peptide wird im wesentlichen durch die Bildung von drei verschiedenen Ionen-Typen bestimmt. Acyl-immonium-Ionen des Typs **A** und Acylium-Ionen des Typs **C** entstehen im primären Zerfallsschritt aus den Molekül-Ionen durch Spaltung einer der Bindungen in  $\alpha$ -Stellung zu einer Peptid-Carbonylgruppe. Als Ionen gerader Elektronenzahl können **A** und **C** nur durch Eliminierung neutraler Moleküle weiterzerfallen. Aus **C** entsteht durch Abspaltung eines CO-Moleküls das entsprechende Ion **A**. Die Acyl-immonium-Ionen **A** zerfallen durch Eliminierung des Acylrestes zu Immonium-Ionen des Typs **B**, wobei

---

\*) Herrn Prof. *A. Lüttringhaus* zum 60. Geburtstag gewidmet.

1) XIII. Mitteilung; *K. Heyns* und *H. Scharmann*, Chem. Ber. **99** (1966), im Druck.

2) *K. Heyns* und *H. F. Grützmacher*, Liebigs Ann. Chem. **669**, 189 (1963).

3) *K. Heyns* und *H. F. Grützmacher*, Tetrahedron Letters [London] **1963**, 1761.

4) *H. F. Grützmacher* und *K. Heyns*, ASTM Mass Spectrometry Symposium, Paris 1964.

5) *F. Weygand*, *A. Prox*, *H. H. Fessel* und *K. Kun Sun*, Z. Naturforsch. **20b**, 1169 (1965).



tungsreaktionen in den Aminosäureseitenketten entstehen, besitzen für die Massenspektren einfacher aliphatischer *N*-Acetyl-peptide geringe Bedeutung und werden mit größeren Intensitäten nur bei Peptiden des Valins, Leucins und Isoleucins beobachtet. Durch McLafferty-Umlagerung unter Eliminierung der Seitenkette als Olefin und anschließende Abspaltung der Aminkomponente oder von Wasser entstehen dabei Ionen der Typen E und F.

Diese übersichtliche Fragmentierung eines einfachen *aliphatischen N*-Acetyl-peptids im Massenspektrometer kommt einer Sequenzanalyse entgegen. An Hand der im allgemeinen sehr großen Peaks der Ionen **B** können die im Peptid enthaltenen verschiedenen Aminosäurereste leicht erkannt werden. Die Sequenz wird dann durch Auszählen der Massendifferenzen zwischen den verschiedenen Ionen **A** und **C** bestimmt, die durch ihre charakteristische Intensität im Massenspektrum schnell aufgefunden werden können.

Eine Erklärung für die bevorzugte Bindungsspaltung im Peptidgerüst ist mit Hilfe von Vorstellungen möglich, die *Djerassi* und Mitarbeiter<sup>7)</sup> für den Zerfall organischer Molekül-Ionen entwickelt haben. Danach ist die positive Ladung des Molekül-Ions weitgehend in leicht ionisierbaren Atomgruppen des Moleküls lokalisiert und steuert von dort den Zerfall. Einfache aliphatische Acetylpeptide besitzen als leicht ionisierbare Gruppen nur die Peptidbindungen. Im Molekül-Ion wird daher eine der Peptidbindungen eine positive Ladung tragen und der Zerfall erfolgt bevorzugt in Richtung einer Stabilisierung dieser Ladung durch Mesomerie in Ionen des Typs **A** oder **C**. Ein großer Einfluß der Aminosäureseitenkette auf das Fragmentierungsmuster eines Acetylpeptids ist demnach nur dann zu erwarten, wenn in ihr leicht ionisierbare Atome oder Atomgruppen enthalten sind, die mit den Peptidbindungen um die positive Ladung des Molekül-Ions konkurrieren können. Formal können dann neben Molekül-Ionen mit einer positiv geladenen Peptidgruppierung auch solche angenommen werden, die die positive Ladung in der Aminosäureseitenkette tragen und durch Reaktionen zerfallen, die spezifisch für diese Seitenkette sind. Entsprechende Bruchstücke treten tatsächlich in den Massenspektren acetylierter trifunktioneller Aminosäuren<sup>8)</sup> und Aminosäuremethylester<sup>9)</sup> auf. Diese Reaktionen können das Fragmentierungsschema eines Peptids erheblich ändern und eine massenspektrometrische Sequenzanalyse empfindlich stören.

Eine Analyse der Massenspektren acetylierter Peptide von Serin, Threonin, Hydroxyprolin, Lysin, Asparaginsäure und Glutaminsäure zeigt, daß die „Seitenketten-Reaktionen“ dieser Aminosäurereste den Zerfall des Peptidmolekül-Ions nicht entscheidend beeinflussen.

Bei Serin, Threonin, Asparaginsäure und Glutaminsäure beobachtet man eine Wasserabspaltung aus der Seitenkette, so daß neben Peaks der Ionen **A**, **B** und **C** solche mit einer um 18 kleineren Massenzahl auftreten. Wegen der leichten Bildung von Pyroglutaminsäure-

<sup>7)</sup> *H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams*, Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds, Holden-Day, Inc., San Francisco 1964.

<sup>8)</sup> *K. Heyns und H. F. Grützmaker*, Liebigs Ann. Chem. **667**, 194 (1963).

<sup>9)</sup> *C. O. Andersson, R. Ryhage und E. Stenhagen*, Arkiv Kemi **19**, 417 (1962); *C. O. Andersson, R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen und E. Stenhagen*, ebenda **19**, 405 (1962).

derivaten ist die Wasserabspaltung bei Peptiden der Glutaminsäure besonders ausgeprägt. Ionen der Pyroglutaminsäure werden auch nach einer Veresterung der  $\gamma$ -Carboxylgruppe im Peptid mit großer Intensität gebildet, während bei den Peptiden der anderen drei Aminosäuren die der Wasserabspaltung entsprechenden Reaktionen nach einer vorhergehenden Methylierung oder Acetylierung der Hydroxyl- und Carboxylgruppe in den Seitenketten zurückgedrängt werden können.

Dagegen ist in den Massenspektren von Peptiden der *aromatischen* Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin, Histidin und Tryptophan ein viel größerer Einfluß der Seitenkette auf die Fragmentierung zu erwarten. Die Seitenketten dieser Aminosäuren, die alle vom „Benzyl-Typ“ sind, bilden besonders stabile Kationen. Wir haben daher die Massenspektren der Acetylpeptide **1** bis **20** aufgenommen \*), um den Einfluß jeweils eines aromatischen Aminosäurerestes und seiner Stellung in der Peptidkette auf das

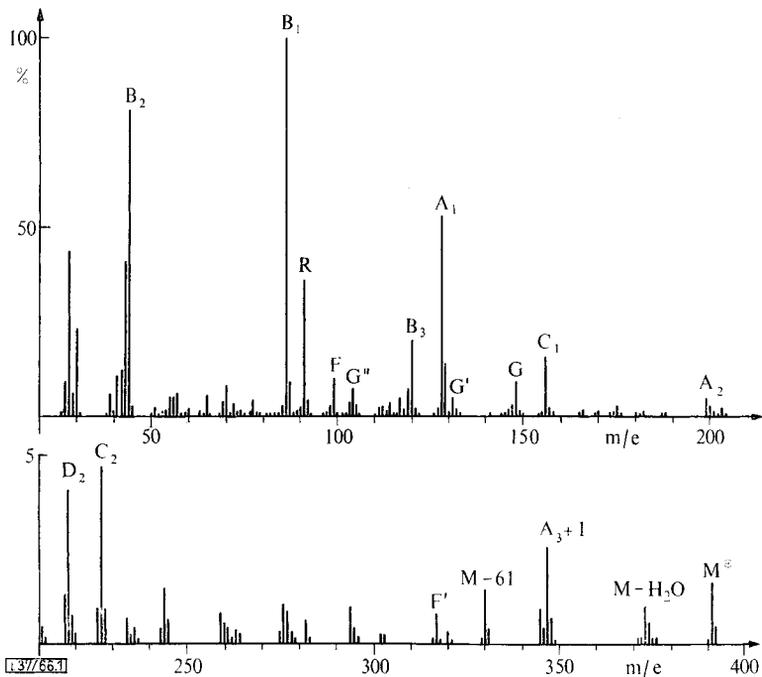


Abbildung 1. Massenspektrum des Acetyl-leucyl-alanyl-phenylalanins (9)\*\*)

\*) Die Massenspektren wurden durch direkten Einlaß mit einem MAT-CH4-Massenspektrometer bei 70 eV erhalten; Probentemperatur ca. 150°.

\*\*\*) In den Abb. 1–3 ist auf der Ordinate die relative Intensität in % des häufigsten Ions aufgetragen. (Abb. 1: 100%  $\cong$  13,3%  $\Sigma_{25}$ ; Abb. 2: 100%  $\cong$  10,9%  $\Sigma_{25}$ ; Abb. 3: 100%  $\cong$  16,2%  $\Sigma_{25}$ ).

Fragmentierungsmuster festzustellen. Als Beispiele sind in den Abb. 1–3 die Massenspektren der Peptide **9**, **15** und **13** wiedergegeben.

<b>1</b>	Ac-Phe-Gly-OH	<b>11</b>	Ac-Try-Ala-OCH <sub>3</sub>
<b>2</b>	Ac-Phe-Leu-OH	<b>12</b>	Ac-Ala-Try-OH
<b>3</b>	Ac-Gly-Phe-OH	<b>13</b>	Ac-Ala-Try-Leu-OH
<b>4</b>	Ac-Ala-Phe-OH	<b>14</b>	Ac-Ala-Try-Leu-OCH <sub>3</sub>
<b>5</b>	Ac-Ala-Phe-Gly-OH	<b>15</b>	Ac-Tyr-Ala-OH
<b>6</b>	Ac-Leu-Phe-Gly-OH	<b>16</b>	Ac-Gly-Tyr-OH
<b>7</b>	Ac-Val-Phe-Leu-OH	<b>17</b>	Ac-Ala-Tyr-OH
<b>8</b>	Ac-Val-Phe-Leu-OCH <sub>3</sub>	<b>18</b>	Ac-His-Ala-OH
<b>9</b>	Ac-Leu-Ala-Phe-OH	<b>19</b>	Ac-Leu-His-OH
<b>10</b>	Ac-Try-Ala-OH	<b>20</b>	Ac-Leu-His-Ala-OCH <sub>3</sub>

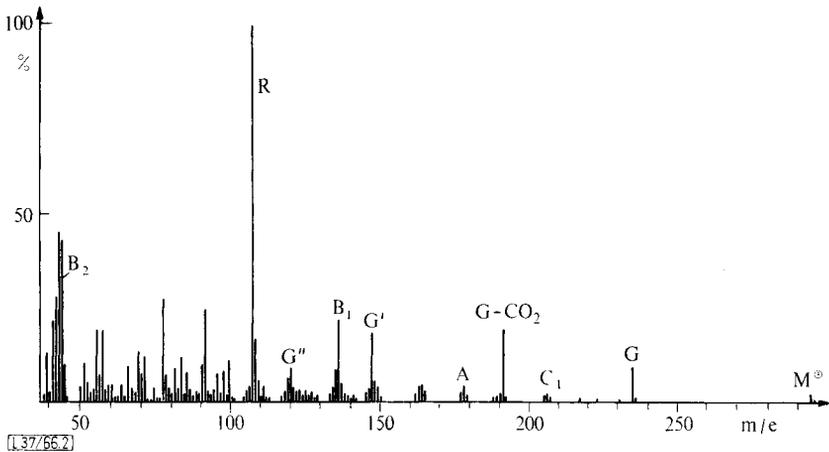


Abbildung 2. Massenspektrum des Acetyl-tyrosyl-alanins (**15**)

Die Massenspektren nicht nur der freien und *N*-acetylierten aromatischen Aminosäuren<sup>8)</sup> sowie der Methylester<sup>9,10)</sup>, sondern auch der acetylierten Peptide dieser Aminosäuren enthalten alle die erwarteten großen Peaks der aus der Seitenkette gebildeten Ionen des Typs **R**. Ihre Massenzahlen (MZ) betragen 91 für Phenylalanin, 81 für Histidin, 107 für Tyrosin und 130 für Tryptophan. In dieser Reihenfolge steigt auch die relative Intensität von **R** an. Während bei acetylierten Peptiden des Histidins und Phenylalanins die Größe der Peaks MZ 81 bzw. 91 der der übrigen intensiven Peaks im Massenspektrum vergleichbar ist, bilden bei Peptiden des Tyrosins und Tryp-

<sup>10)</sup> K. Biemann, J. Seibl und F. Gapp, J. Amer. chem. Soc. **83**, 3795 (1961).

tophans die Seitenketten-Ionen **R** (MZ 107 bzw. 130) stets den Hauptpeak im Massenspektrum. Ein Vergleich der Massenspektren inverser Dipeptidpaare wie **1/3**, **10/12** und **15/17** zeigt, daß die Intensität von **R** bei einer *N*-terminalen Stellung des aromatischen Aminosäurerestes geringfügig erhöht ist. Einen wesentlich größeren Einfluß auf die relative Intensität des Bruchstückes **R** besitzen jedoch die übrigen Aminosäure-

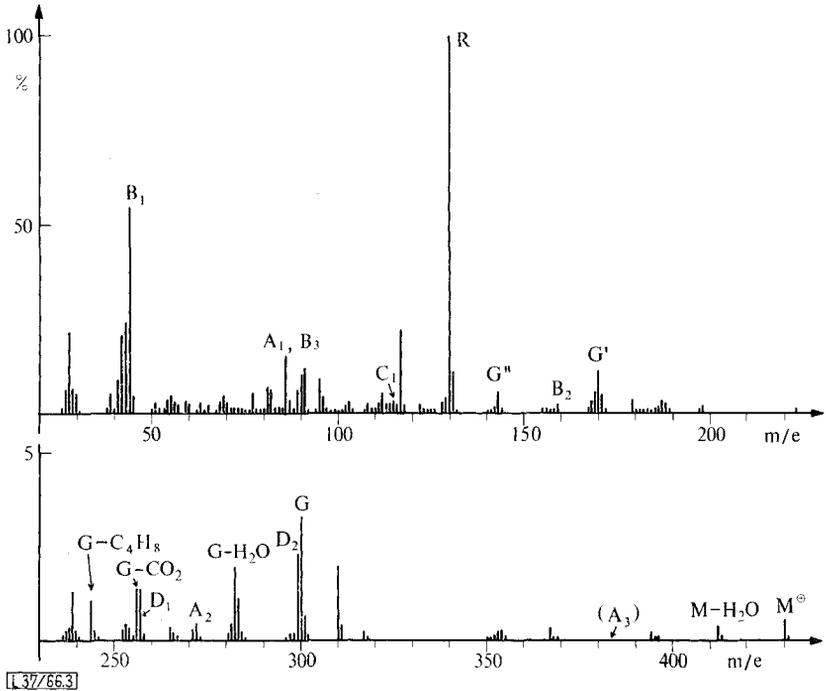
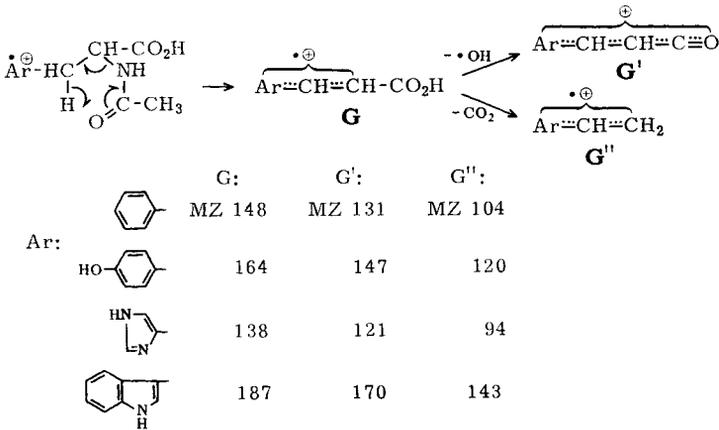


Abbildung 3. Massenspektrum des Acetyl-alanyl-tryptophyl-leucins (**13**)

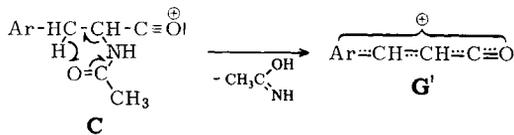
reste im Peptid. So beträgt z. B. die relative Intensität des Peaks MZ 91 in den Massenspektren der Peptide **1–5** zwischen 80 und 100%, bei den übrigen Peptiden des Phenylalanins aber nur 30 bis 50%. Es ist daher nicht möglich, die Stellung des aromatischen Aminosäurerestes an Hand einer charakteristischen Intensitätsabstufung der Ionen **R** zu bestimmen.

Acetyl-phenylalanin gibt außer einem Fragment **R** bei MZ 91 noch drei charakteristische Bruchstücke bei den MZ 148, 131 und 104. Das Ion 148 (Typ **G**) entsteht durch Eliminierung von Acetamid aus dem Molekül-Ion. Die Abspaltung eines OH-Radikals oder von CO<sub>2</sub> aus **G** liefert die Ionen der MZ 131 (Typ **G'**) und 104 (Typ **G''**).

Analoge Bruchstücke beobachtet man auch bei den Acetylderivaten des Histidins, Tyrosins und Tryptophans, nicht aber bei aliphatischen Acetylaminosäuren. Die Ausbildung der zum aromatischen Ring konjugierten Doppelbindung in **G** ermöglicht eine bessere Stabilisierung der positiven Ladung.



Aus dem C-terminalen Phenylalaninrest eines Peptids werden gleichfalls Ionen der MZ 148, 131 und 104 gebildet. In diesem Fall wird statt Acetamid die Aminogruppe des Phenylalanins mit dem anhaftenden substituierten Aminoacylrest eliminiert. Völlig analog verhalten sich die Peptide mit C-terminalem Histidin, Tyrosin oder Tryptophan. In jedem Fall tritt ein deutlicher Peak des Ions **G** und zwei kleinere der Ionen **G'** und **G''** ( $G'' > G'$ ) auf. Dagegen sind bei N-terminaler oder mittelständiger Position des aromatischen Aminosäurerestes die Intensitätsverhältnisse der Fragmente **G'** und **G''** umgekehrt. **G'** kann bei diesen Peptiden auch aus **C** entstehen,



wobei das aromatische System in die Mesomerie des Acylium-Ions **C** mit einbezogen wird. Daneben ist zu erwarten, daß auch hier den Ionen **G** analoge Fragmente gebildet werden. In der Tat lassen sich derartige Ionen in den Massenspektren der untersuchten Di- und Tripeptide nachweisen. Ihre Intensität ist jedoch nicht so groß wie bei C-terminaler Stellung der aromatischen Aminosäure. Dies liegt an der großen Zahl von Zerfallsreaktionen des Ions **G**, die wegen der übrigen darin enthaltenen Aminosäuren möglich sind.

Ein Beispiel für das massenspektrometrische Verhalten eines Peptids mit *N*-terminaler aromatischer Aminosäure liefert Verbindung **15** (Abb. 2). Der Peak MZ 235 zeigt, daß hier wie bei Acetyl-tyrosin ein Ion **G** durch Eliminierung von Acetamid gebildet wird. Durch Abspaltung von CO<sub>2</sub> aus der C-terminalen Carboxylgruppe von **G** entsteht ein Ion MZ 191. Neben den intensiveren Peaks bei 235 und 191 werden im oberen Massenbereich nur noch die kleineren Peaks des Molekül-Ions (294) und des Ions C<sub>1</sub> (206) beobachtet. Ein Bruchstück A<sub>2</sub> (Bindungsspaltung im C-terminalen Alaninrest) fehlt ebenso wie Peaks der Ionen M—18 und M—61, die bei Peptiden aliphatischer Aminosäuren auftreten.

Als Beispiel für ein Peptid mit mittelständiger aromatischer Aminosäure ist in Abb. 3 das Massenspektrum von **13** angeführt. Aus diesem Peptid entsteht ein Ion **G** durch Eliminierung von Acetylalaninamid. Es besitzt die gleiche ganzzahlige MZ 300 wie das Ion C<sub>2</sub>, das durch Spaltung der zum Tryptophan C-ständigen Peptidbindung entstehen würde. Die genaue Massenbestimmung des Peaks 300 (siehe Tab. 1) ergibt, daß ausschließlich Ionen des Typs **G** entstehen. Diese Zuordnung wird durch das Massenspektrum des Acetyl-peptidmethylesters **14** bestätigt, in dem der Peak 300 nach 314 verschoben erscheint. Das ist nur möglich, wenn im Bruchstück 300 die C-terminale Carboxylgruppe vorhanden ist. Dies trifft für **G** zu, nicht aber für C<sub>2</sub>.

Tabelle 1. Genaue Massenbestimmung der Ionen des Peptids **13**<sup>a)</sup>

MZ exp.	Formel	MZ ber.	Fehler <sup>b)</sup>	Ionentyp
300.1499	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	300.1474	+ 2.5	<b>G</b>
299.1641	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	299.1639	+ 0.2	<b>D</b> <sub>2</sub>
257.1153	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	257.1164	- 1.1	<b>D</b> <sub>1</sub>
256.1560	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	256.1575	- 1.6	<b>G</b> -CO <sub>2</sub>
244.0859	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	244.0848	+ 1.1	<b>G</b> -C <sub>4</sub> H <sub>8</sub>
170.0608	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> NO	170.0606	+ 0.2	<b>G</b> '
143.0735	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N	143.0735	0.0	<b>G</b> ''

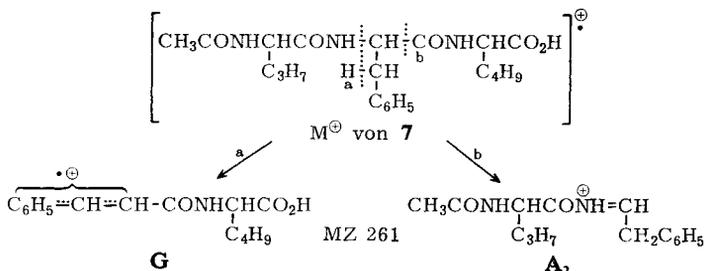
a) Aufgenommen mit einem doppelfokussierenden MAT-SM 1-Massenspektrometer.

b) in Millimasseneinheiten.

Mit Hilfe der in Tabelle 1 angeführten genauen Ionenmassen konnten auch weitere Zerfallsreaktionen des Ions **G** aus **13** bestätigt werden. Neben der Bildung von **G**' und **G**'' (MZ 170 und 143) beobachtet man Eliminierung von H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> und C<sub>4</sub>H<sub>8</sub> (aus der Leucin-Seitenkette) zu Ionen der MZ 182, 256 und 244. Es ist bemerkenswert, daß bei **13** ebenso wie bei **15** der Peak des Ions **G** der letzte größere ist und nicht Peaks der nach dem Fragmentierungsschema zu erwartenden Ionen **A** oder **C**.

Bei Peptiden mit *N*-terminalem oder mittelständigem Phenylalanin anstelle von Tyrosin oder Tryptophan sind die Ionen **G** weniger charakteristisch. So enthält das Massenspektrum des Peptids **7** neben den üblichen Fragmenten der Reihen **A** und **C** im oberen Massenbereich mit 7.3% relativer Intensität einen Peak bei MZ 261, der sowohl aus **G** (durch Eliminierung von Acetylvalinamid nach a) als aus A<sub>2</sub> (durch

Abspaltung von  $-\text{CONHCH}[\text{C}_4\text{H}_9]\text{COOH}$  nach b) gebildet werden kann. Die genaue Massenbestimmung ergibt ein Dublett beider Ionen bei MZ 261, wobei  $\text{A}_2$  überwiegt.



Die acetylierten *Peptide* der aromatischen Aminosäuren geben demnach Ionen der gleichen Typen **R**, **G**, **G'** und **G''** wie die aromatischen Acetylaminosäuren. Dies spricht für das zu Beginn diskutierte Auftreten eines weiteren Schwerpunktes der positiven Ladung des Molekül-Ions in der aromatischen Seitenkette auch bei den Peptiden. Dabei nimmt in der Reihe der Peptide des Phenylalanins, Histidins, Tyrosins und Tryptophans die Bedeutung dieses neuen Ladungszentrums für den Zerfall der Peptid-Molekül-Ionen zu. Ein ungefähres Maß für den Einfluß der aromatischen Seitenkette erhält man, wenn man in den Massenspektren der verwandten Dipeptide **1**, **10**, **15** und **18** die Intensitäten der Ionen **R**, **G**,  $\text{G}-\text{CO}_2$ , **G'** und **G''** addiert und mit der Summe der Intensitäten der Ionen **A**, **B** und **C** ins Verhältnis setzt. Die Ionen der ersten Art sollten nämlich aus Molekül-Ionen mit der positiven Ladung in der aromatischen Seitenkette entstehen, während die anderen auf dem üblichen Wege aus Molekül-Ionen gebildet werden, die die positive Ladung an einer der Peptidbindungen tragen. Drückt man  $\Sigma \text{A}_1$ ,  $\text{A}_2$ ,  $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_2$ ,  $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_2$  in Prozenten von  $\Sigma \text{R}$ , **G**,  $\text{G}-\text{CO}_2$ , **G'**, **G''** aus, so ergeben sich für die Verbindungen **1**, **18**, **15** und **10** Werte von 63, 44, 37 und 27%.

Für die Abhängigkeit der relativen Intensitäten von **R**, **G**, **G'** und **G''** von der Stellung der aromatischen Aminosäure in der Peptidkette folgt aus dem vorliegenden Versuchsmaterial nur, daß die Ionen der Reihe **G** bei einer C-terminalen Position bevorzugt gebildet werden, während bei den anderen Positionen **G'** intensiver gefunden wird. Im einzelnen üben aber die übrigen Aminosäurereste des Peptids ebenfalls einen großen Einfluß aus, der sich noch nicht überschauen läßt.

Für die massenspektrometrische *Sequenzanalyse* ist es wichtig, die Spektren der acetylierten Peptide aromatischer und einfacher aliphatischer Aminosäuren miteinander zu vergleichen. Das Massenspektrum des Phenylalanin-peptids **9** in Abb. 1 zeigt neben den charakteristischen Ionen des Phenylalaninrestes alle Peaks, die nach den oben angeführten Zerfallsreaktionen aliphatischer Peptide zu erwarten sind. Gleiches gilt für Peptide mit einem N-terminalen oder mittelständigen Phenylalaninrest. Der Einfluß der Benzylseitenkette auf die Fragmentierungen des Molekül-Ions ist nicht so groß, daß die normalen Spaltungsreaktionen längs der Peptidkette unter-

drückt werden. Eine Sequenzanalyse von Phenylalanin-peptiden ist daher nach dem üblichen Verfahren möglich, wobei die Zuordnung der einzelnen Peaks durch die für das Phenylalanin typischen Ionen erleichtert wird.

Durch den Einbau von Histidin, Tyrosin, besonders aber Tryptophan in das Peptid wird das Fragmentierungsmuster seines Massenspektrums viel stärker verändert. Bei *C-terminaler* Position dieser Aminosäuren können die Bruchstücke der Reihen **A**, **B** und **C** (Spaltung der Peptidkette) mit verringerter Intensität noch nachgewiesen werden. Die Peaks der Ionen **A**, **B** und **C**, die durch Spaltungen der zum aromatischen Aminosäurerest benachbarten Peptidbindung gebildet werden, sind aber besonders gering oder fehlen vollständig. Dafür entsteht das für die *C*-terminale aromatische Aminosäure charakteristische Ion **G** mit größerer Intensität. Spaltungsreaktionen des Molekül-Ions am aromatischen Aminosäurerest führen also bevorzugt zur Bildung der Ionen **G** oder **R**. Die Sequenzanalyse wird dadurch nicht gestört, da die Reihenfolge der übrigen Aminosäurereste nach dem normalen Verfahren festgelegt werden kann und die *C*-terminale Stellung der aromatischen Aminosäure durch die charakteristische Intensität und MZ des Ions **G** leicht erkannt werden kann. Für Peptide mit *N-terminalem* oder mittelständigem Histidin, Tyrosin oder Tryptophan bedeutet die bevorzugte Bildung von **G** jedoch, daß Peaks der Ionen **A**, **B** und **C** der benachbarten Aminosäurereste sehr klein sind. Diese Aminosäurereste sind im Ion **G** enthalten und werden bei seinem Zerfall bevorzugt als neutrale, massenspektrometrisch nicht nachweisbare Fragmente abgespalten. Bei Di- und Tripeptiden, wie sie in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, ist eine Ableitung der Aminosäuresequenz aus dem Massenspektrum immer möglich. Bei größeren Oligopeptiden mit mittelständiger aromatischer Aminosäure muß sich die Sequenzbestimmung auf die richtige Zuordnung sehr kleiner Peaks stützen. Dies ist mit hinreichender Sicherheit nur durch Aufnahme hochaufgelöster Massenspektren möglich. Bei den empfindlichen Peptiden trifunktioneller Aminosäuren ist eine thermische Zersetzung während der massenspektrometrischen Untersuchung schwer zu vermeiden. Dadurch treten zusätzliche Peaks auf, z. B. die mit **D** gekennzeichneten Bruchstücke (Abb. 1 und 3), die durch Ionen mit Dioxopiperazin-Struktur gebildet werden, und der Peak MZ 310 (Abb. 3), dessen Intensität bei Erhöhung der Ionenquellentemperatur rasch zunimmt und der durch ein unbekanntes Zersetzungsprodukt des Peptids **13** entsteht. Besonders störend ist die thermische Zersetzung bei acetylierten Peptiden des Histidins. Es ist uns bisher nicht gelungen, von Tri- oder höheren Oligopeptiden des Histidins reproduzierbare Massenspektren zu erhalten. Erst die Veresterung der *C*-terminalen Carboxylgruppe erhöht die thermische Stabilität dieser Peptide so weit, daß für eine Sequenzanalyse brauchbare Massenspektren erhalten werden.

Dem *Bundesminister für wissenschaftliche Forschung* danken wir für finanzielle Unterstützung<sup>1</sup> dieser Arbeit; den *Friedrich-Krupp-MAT-Werken*, Bremen, für die freundliche Hilfe bei der Aufnahme der hochaufgelösten Massenspektren. [37/66]