

Kombination von Dünnschichtchromatographie und Massenspektrographie

Von Prof. Dr. K. Heyns und Dr. H. F. Grützmacher

Chemisches Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg

Man kann Massenspektren direkt aus Dünnschichtchromatogramm-Proben von kondensierten Aromaten, Heterocyclen, Steroiden, Derivaten von Kohlenhydraten, Aminosäuren und Peptiden erhalten.

Bei der Massenspektrometrie zur Strukturanalyse organischer Verbindungen [1] sind mit der üblichen Meßanordnung (Einlaß der Meßprobe in die Ionenquelle aus einem Vorratsbehälter mit oder ohne Einlaßdüse) nur relativ leicht flüchtige Substanzen verwendbar. Schwerer flüchtige Verbindungen müssen direkt in die Ionenquelle eingeführt und dort verdampft werden. Dieses Verfahren [2] führte bisher zu starken „memory“-Effekten und einem Nachlassen des Auflösungsvermögens des Massenspektrometers. In einem CH-4-Massenspektrometer der Atlas Meß- und Analysen-Technik GmbH, Bremen, mit Festkörperionenquelle kann die Ionisierungskammer der Ionenquelle mit Hilfe einer Vakuumschleuse ausgewechselt werden. Die zu untersuchende Substanz wird in ein 10 mm langes Glasröhrchen von ca. 1 mm Ø gefüllt und das offene Ende des Röhrchens zu einer Kapillare ausgezogen. Das Röhrchen wird so in der Ionisierungskammer befestigt, daß die Substanz nach Einschleusen direkt in den Elektronenstrahl hinein sublimiert. Das Auflösungsvermögen wird dadurch nicht beeinflusst; eine Verschmutzung der Ionenquelle beschränkt sich hauptsächlich auf die leicht zu reinigende Ionisierungskammer. Nachteilig ist noch, daß die Temperatur der Ionenquelle nicht geregelt werden kann und sich die normale Arbeitstemperatur von 150–200 °C einstellt. Es können Substanzen gemessen werden, die bei 150–200 °C thermisch stabil sind und dann einen Dampfdruck von ca. 10^{-7} Torr besitzen. Wir konnten die Massenspektren von alicyclischen Carbonsäuren, Zuckerderivaten und acylierten Aminosäuren und Peptiden erhalten [3]. Dabei kann man direkt die an Kieselgel adsorbierten Substanzen verwenden. In den für die Strukturaufklärung wichtigen höheren Massenbereichen stört das von Kieselgel und Lösungsmittelresten herrührende Untergrundspektrum nicht. Man benötigt einige µg Substanz, jedoch muß das Verhältnis Substanz zu Kieselgel mindestens 1:100 betragen. Dieses Verhältnis wird in scharfen und intensiven Flecken von Dünnschichtchromatogrammen erreicht.

Eingegangen am 16. April 1962 [Z 263]

[1] K. Biemann, *Angew. Chem.* 74, 102 (1962); K. Heyns u. H. F. Grützmacher, *Z. Naturforsch.* 16b, 293 (1961).

[2] R. I. Reed, W. K. Reid u. J. M. Wilson, *Symposium on Mass Spectrometry*, Oxford 1961.

[3] Versuche zusammen mit Dipl.-Chem. H. Scharmann. Über die Ergebnisse wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

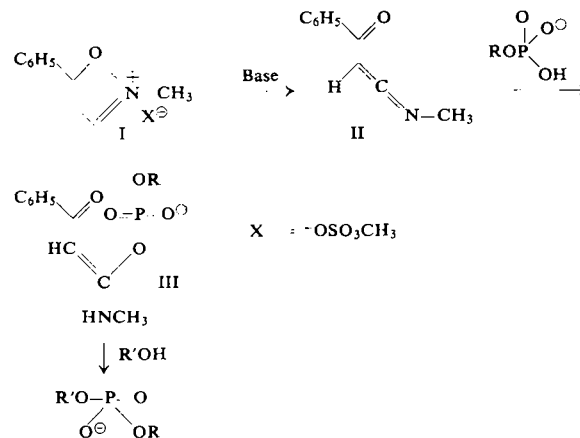
Neue Phosphorylierungsreaktionen und Schutzgruppen für Nucleotide

Von Prof. Dr. F. Cramer, Dipl.-Chem. Hans Neunhoeffer, Dipl.-Chem. K. H. Scheit, cand. Ing. Gerhard Schneider und cand. Ing. J. Tennigkeit [1]

Institut für organische Chemie der T. H. Darmstadt

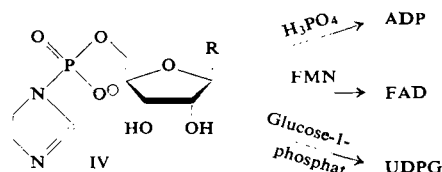
N-Methyl-5-phenyl-isoxazoliummethylsulfat I [2] liefert in Gegenwart von Base II, das mit Phosphorsäure ein ausgezeichnetes Phosphorylierungsreagenz vom Enolphosphat-Typ (III) bildet.

Dargestellt wurden: Methyl-phenylphosphat (89 % Ausb.), Äthylphenylphosphat (70 %), Isopropyl-phenylphosphat (73 %), Benzylphenylphosphat (81 %). Die Reaktion kann auch zur Synthese von Nucleotidestern und damit zur Oligonucleotid-Synthese verwendet werden.



Nucleotid-imidazole [3] sind Ausgangsmaterialien für viele Nucleotid-Derivate. AMP-imidazolid (IV, R = Adenin) reagiert mit Orthophosphat zur ADP (95 %), mit Flavin-Mononucleotid zu Flavin-Adenin-Dinucleotid (67 %) (FAD).

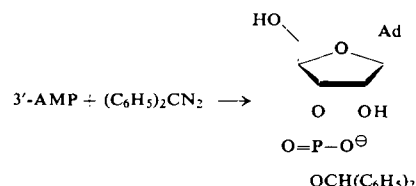
UMP-imidazolid (IV, R = Uracil) liefert mit



Glucose-1-phosphat das Coenzym Uridin-Disphosphat-Glucose (UDPG) (Ausb. 67 %), TMP-imidazolid entsprechend Thymidin-Diphosphat-Glucose (70 %).

Als neue Schutzgruppe für Phosphorsäure in Nucleotiden wurde die tert. Butylgruppe eingeführt. Tert.-Butyl-nucleotide sind nach der Trichloracetnitril-Methode [4] erhältlich, z. B. 5'-AMP-tert. butylester (Ausb. 60 %) und 3'-Thymidylsäure-tert. butylester (75 %). – Diese Schutzgruppe kann mit 20 % Essigsäure in 45 min bei 60 °C entfernt werden.

Andersartig geschützte Nucleotide werden durch Umsetzung von 3'-Adenylsäure bzw. 3'-Uridylsäure mit Diphenyl-diazomethan in 60 % Ausbeute erhalten, z. B.:



Eingegangen am 27. März 1962 [Z 270]

[1] Nach einem Vortrag vor der Basler Chemischen Gesellschaft am 21. Dez. 1961.

[2] R. B. Woodward u. R. A. Olofson, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 1010 (1961).

[3] F. Cramer, H. Schaller u. H. A. Staab, *Chem. Ber.* 94, 1612 (1961).

[4] F. Cramer u. G. Weimann, *Chem. Ber.* 94, 996 (1961).