

Zum massenspektroskopischen Fragmentierungsverhalten von Steroidlactonen*

Von

H. Budzikiewicz, J. Buchler und G. Quinkert

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Braunschweig

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 4. April 1967)

Durch Untersuchung einer Reihe von Steroidlactonen konnte gezeigt werden, daß in einem komplexen Kohlenwasserstoffgerüst die von der Lactongruppierung ausgelöste Fragmentierung gegenüber anderen Prozessen von sekundärer Bedeutung ist, ausgenommen wenn sie zu besonders stabilen Spaltprodukten führt, oder wenn strukturelle Faktoren, wie z. B. Ringspannung, von der Lactongruppierung eingeleitete Bruchstückbildung begünstigen. In solchen Fällen können massenspektroskopische Untersuchungen mit Erfolg auf Strukturprobleme angewandt werden.

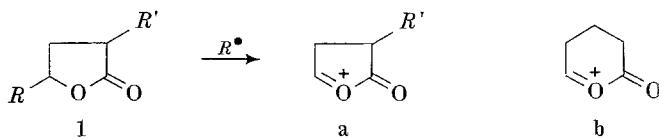
Der Einfluß verschiedener funktioneller Gruppen auf das massenspektroskopische Fragmentierungsverhalten von Steroiden ist in den letzten Jahren eingehend untersucht worden¹. Derartige Untersuchungen sind von Interesse, da sie abzuschätzen erlauben, wie weit Substituenten das Fragmentierungsverhalten komplexer Systeme beeinflussen, eine Information, die sowohl für die Interpretation von Massenspektren komplizierterer Verbindungen von Bedeutung ist, als auch für die Möglichkeit eines gezielten Einbaus einer funktionellen Gruppe, um bei Strukturermittlungen bestimmte Fragmentierungen einzuleiten. Über

* Herrn Prof. Dr. F. Wessely in Verehrung zum 70. Geburtstag.

¹ Für eine Zusammenfassung siehe: *H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, „Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry“*, Holden-Day, San Francisco, 1964, Bd. 2, Kapitel 17—22.

Steroidlactone liegt bisher nur eine Arbeit vor², in der auf die Massenspektren einiger Umlagerungsprodukte von 4-Oxa-5 α - (bzw. 5 β -)cholestan-3-on kurz eingegangen wird. Im folgenden soll nun an Hand von ausgewählten Beispielen gezeigt werden, in welchem Ausmaß die Lactongruppierung Spaltungsreaktionen einleitet und welche Aussagen über strukturelle Fragen möglich sind.

Es läge auf der Hand, das Fragmentierungsverhalten von Lactonen mit dem von Estern zu vergleichen. Da jedoch die wichtigsten Fragmentierungsreaktionen aliphatischer Ester (z. B. die über einen sechsgliedrigen Übergangszustand verlaufende *McLafferty-Umlagerung*) durch deren offenkettige Struktur bedingt sind, erscheint es sinnvoller, Analogien zu cyclischen Äthern und cyclischen Ketonen zu suchen³. Solche Analogien lassen sich bereits bei einfachen Lactonen⁴⁻⁷ erkennen: γ -Lactone (**1**) zeigen als wichtigste Fragmentierung den Verlust eines Alkylsubstituenten, wenn sich dieser α -ständig zum Ringsauerstoff befindet (**1**, R = Alkyl). Substituenten in α -Stellung zur Carbonylgruppe (**1**, R' = Alkyl) werden jedoch kaum verloren in Übereinstimmung mit der allgemeinen Beobachtung, daß β -Spaltungen bei cyclischen Carbonylverbindungen ungünstig sind.



Ringfragmentierung (Verlust von CH_2O , CO_2 usw.) — bei γ -Lactonen nur bei γ -Butyrolacton (**1**, R = R' = H) und einigen einfachen Alkyl-derivaten von Bedeutung — ist jedoch bei höheren Lactonen etwas stärker ausgeprägt. Außer dem bereits erwähnten bevorzugten Verlust eines Substituenten unter Ausbildung von **a** (aus γ -Lactonen) und **b** (aus δ -Lactonen) werden bei höher alkylsubstituierten Verbindungen Seitenkettenfragmentierungen unter Wasserstoffumlagerung sowie typische Kohlenwasserstoff-Fragmente beobachtet. Der letztere Befund weist bereits darauf hin, daß die Lactongruppierung bei größeren Molekülen nicht unbedingt die Bruchstückbildung beherrscht, wenn andere Zentren primärer Ladungsstabilisierung konkurrieren⁴⁻⁷.

² W. H. Lunn, J. T. Edward und S. Meyerson, Canad. J. Chem. **44**, 279 (1966).

³ Für eine Zusammenfassung siehe: H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, „Mass Spectrometry of Organic Compounds“, Holden-Day, San Francisco, 1967, Kapitel 3 und 6.

⁴ L. Friedman und F. A. Long, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 2832 (1953).

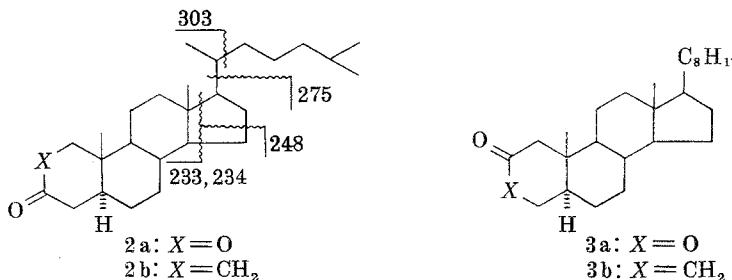
⁵ K. Biemann, „Mass Spectrometry“, McGraw-Hill, New York, 1962, S. 127 f.

⁶ W. H. McFadden, E. A. Day und M. J. Diamond, Anal. Chem. **37**, 89 (1965).

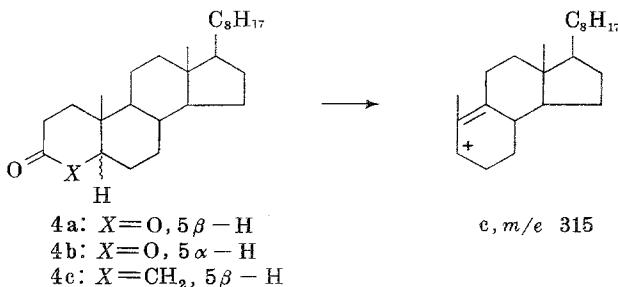
⁷ E. Honkanen, T. Moisio und P. Karvonen, Acta Chem. Scand. **19**, 370 (1965).

Ring-A- und Ring-B-Lactone

Bei Ring-A-Lactonen des 5α -Cholestan ist die Lactongruppierung praktisch ohne Einfluß auf das allgemeine Fragmentierungsverhalten. Die Massenspektren von 2-Oxa- 5α -cholestan-3-on (2a, Abb. 1), 3-Oxa- 5α -cholestan-2-on (3a) und 4-Oxa- 5α -cholestan-3-on (4b) sind einander sehr ähnlich, da wie bei den analogen Ketonen 2b und 3b die wichtigste Zerfallsreaktion der (für C-17-substituierte Steroide typische) Verlust von Ring D⁸ mit (m/e 233) und ohne (m/e 234) Wasserstoffumlagerung⁹ ist. Ebenso treten die weniger bedeutenden Ring-D- und Seitenketten-Fragmente (m/e 248, 275, 303; siehe Wellenlinien in Formel 2a) auf.



Übergang von A/B-*trans* zu A/B-*cis*-Verbindungen macht sich wie bei den analogen Ketonen⁸ (5α -Cholestan-3-on, 2b, und 5β -Cholestan-3-on, 4c) in verstärkter Ring-A-Fragmentierung bemerkbar. Im Spektrum (Abb. 2) von 4-Oxa- 5β -cholestan-3-on (4a) tritt neben den bereits erwähnten Peaks (m/e 233, 234, 248, 275, 303) einer bei m/e 315 ($C_{23}H_{39}^+$, ber. 315,305, gef. 315,305) auf, der in Analogie zu den Ergebnissen bei 5α -Androstan-3-on in überwiegendem Maße dem Ion c entsprechen sollte¹⁰.



⁸ H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **84**, 1430 (1962).

⁹ Zum Mechanismus dieser Spaltungen siehe L. Tökés, Ph. D. Thesis, Stanford University, 1965.

¹⁰ R. H. Shapiro, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **86**, 2837 (1964).



23

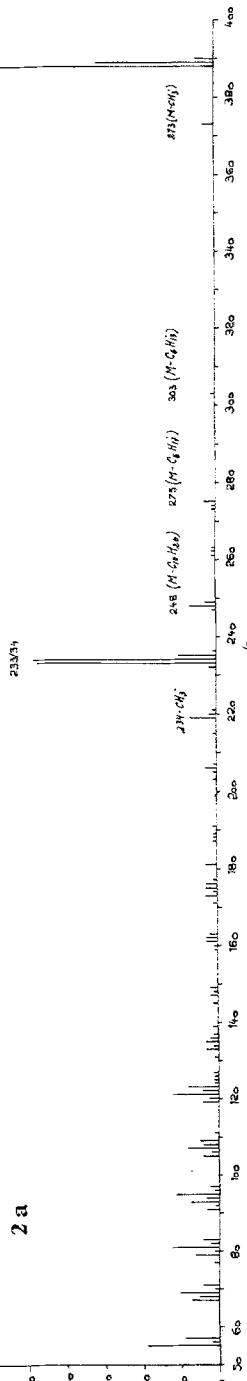
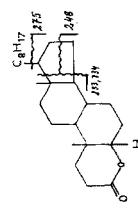
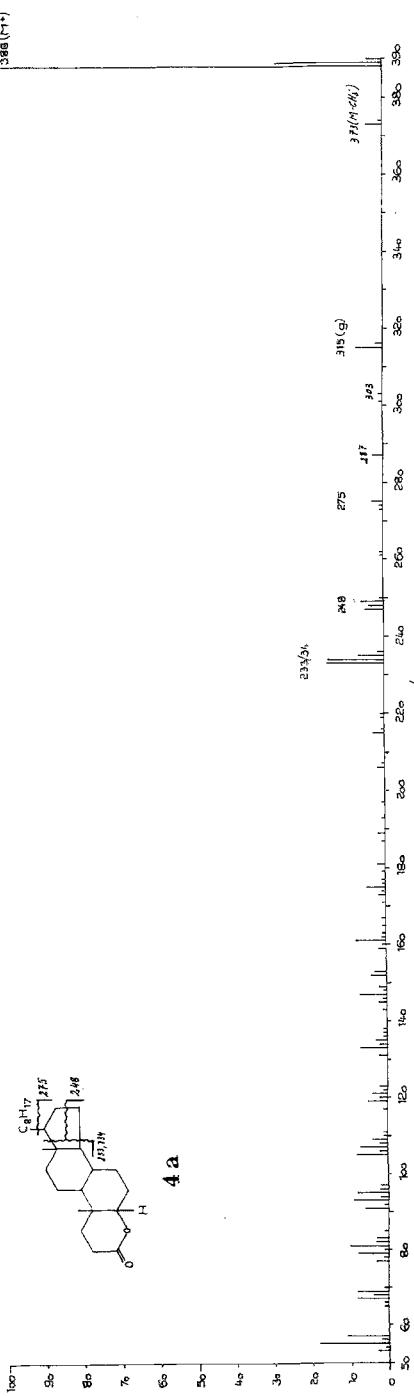


Abb. 1



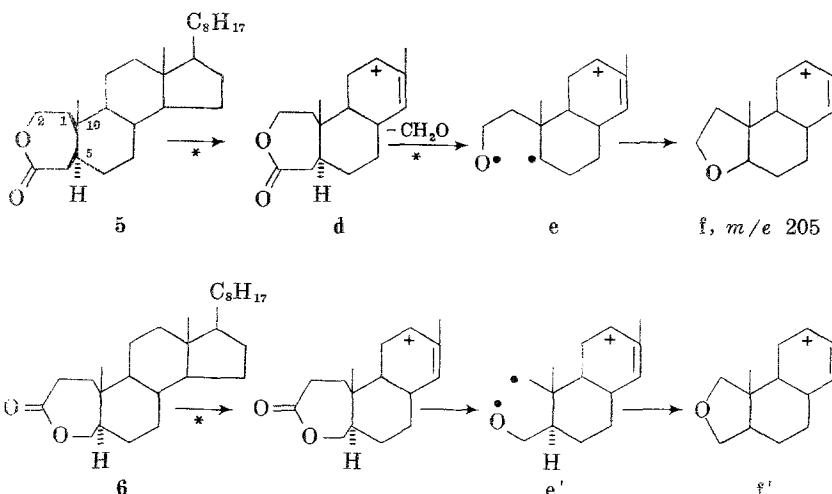
43



Ahn 2

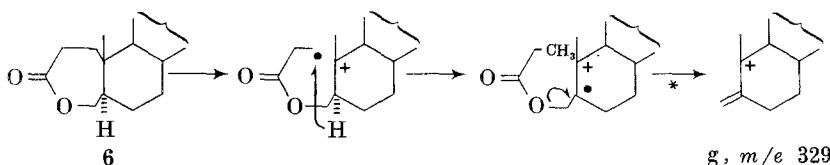
Ebenso wie bei den A/B-*cis*-Verbindungen sollte auch bei den Androstan-Analogen von **2a**, **3a** und **4b** verstärkte Ring-A-Fragmentierung zu beobachten sein, da C-17-unsubstituierte Verbindungen Verlust von Ring D allgemein in geringerem Ausmaß zeigen.

Auch bei den isomeren Verbindungen 3-Oxa-A-homo-5 α -cholestan-4-on (**5**) und 4-Oxa-A-homo-5 α -cholestan-3-on (**6**) erfolgt die Hauptfragmentierung durch Verlust von Ring D (vgl. **2a**). Schon bei einfachen Lactonen war jedoch beobachtet worden, daß bei Ringerweiterung der Zerfall des Lactonringes an Bedeutung gewinnt, und so ist es nicht verwunderlich, daß auch bei **5** und **6** Bruchstücke auftreten, die ihre Entstehung einer Spaltung im Lactonring verdanken und für die beiden isomeren Systeme charakteristisch sein dürften. So weist das Massenspektrum von **5** einen Peak bei m/e 205 (20% rel. Int.) auf, der durch Verlust von Keten aus dem Bruchstück **d** (m/e 247) (zu dessen Struktur vgl.⁹) entsteht (metastabiler Peak bei m/e 152,5). Eine entsprechende Abspaltung von Keten fehlt bei **6**. Dieses unterschiedliche Verhalten kann eine Erklärung darin finden, daß bei **5** intermediär ein sekundäres Radikal an C-5 entsteht (**e**), bei **6** jedoch ein primäres an C-1 auftreten würde (**e'**). Wenn auch in beiden Fällen letztlich Stabilisierung durch Ausbildung eines Tetrahydrofuranringes erfolgen kann (**f**, **f'**), so ist es doch möglich, daß die zur Ausbildung von **e'** notwendige höhere Aktivierungsenergie dessen Bildung weitgehend unterdrückt.

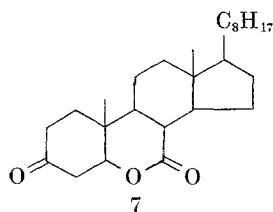


Andererseits zeigt **6** ein Bruchstück (9% rel. Int.) der Masse 329 (C₂₄H₄₁⁺, ber. 329, 321, gef. 329, 319), das aus dem Molekülion (metastabiler Peak bei m/e 269) durch Abspaltung von C₃H₅O₂ entsteht und das

aus 5 mit bedeutend geringerer Intensität gebildet wird. Nimmt man an, daß der Zerfallsprozeß durch Lösen der 1,10-Bindung eingeleitet wird, so kann sich das entstehende primäre Radikal durch Abstraktion des tertiären H-Atoms von C-5 stabilisieren. Der letzte Schritt wäre Spaltung der allylischen 4,4a-Bindung (g).



Von Ring-B-Lactonen stand nur 6-Oxa-5 α -cholestan-3,7-dion (7) zur Verfügung. Das einzige bedeutende Bruchstück (25% rel. Int.) entsteht durch Verlust von Wasser vom Molekülion (100%) ausgehend; oberhalb m/e 150 ist kein anderer Peak mit einer relativen Intensität größer als 8% zu beobachten. 5 α -Cholestan-7-on zeigt von allen untersuchten⁸ einfachen Ketosteroiden den bedeutendsten $M-18$ Peak (18%), doch ist die geringe Skelettfragmentierung (selbst die ubiquitäre Ring-D-Spaltung fehlt praktisch) auffällig.

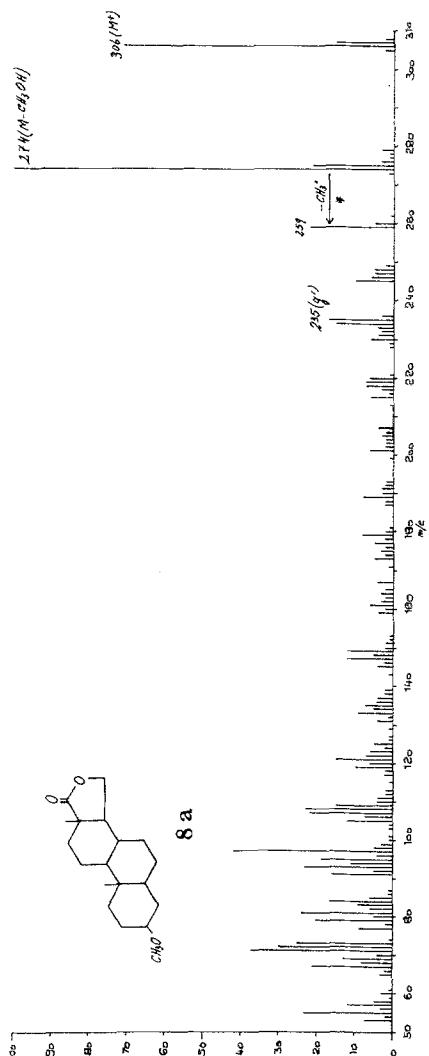


Ring-D-Lactone

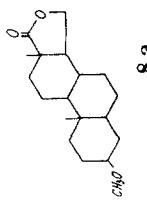
Vergleich der Massenspektren des Isomerenpaares 3 β -Methoxy-16-oxa-5 α -androstan-17-on (8a) und 3 β -Methoxy-17-oxa-5 α -androstan-16-on (8b) zeigt die Bedeutung der Lokalisierung der positiven Ladung in den Molekülionen für den Verlauf weiterer Zerfallsreaktionen. Bei Abwesenheit anderer gut stabilisierender Gruppen ist die bevorzugte Stelle primärer Ionisierung im Steroidgerüst das quartäre C-13 (vgl. die oben erwähnte Ring-D-Spaltung). Bei 8a (Abb. 3) würde dies jedoch zur energetisch ungünstigen Ausbildung einer positiven Ladung in α -Stellung zu einer Carbonylgruppe führen (vgl. Einführung über einfache Lactone). Die Hauptfragmentierung erfolgt daher in Ring A: Abspaltung von CH₃OH (m/e 274) sowie weiterer Verlust einer Methylgruppe (m/e 259). Weiterhin dürfte das Ion der Masse 235 (C₁₅H₂₃O₂, ber. 235, 170, gef. 235, 168) durch partiellen Verlust von Ring A entstehen. Abspaltung eines

Methylradikals vom Molekülion ausgehend ist ohne Bedeutung (weniger als 1% der Intensität des Molekülions).

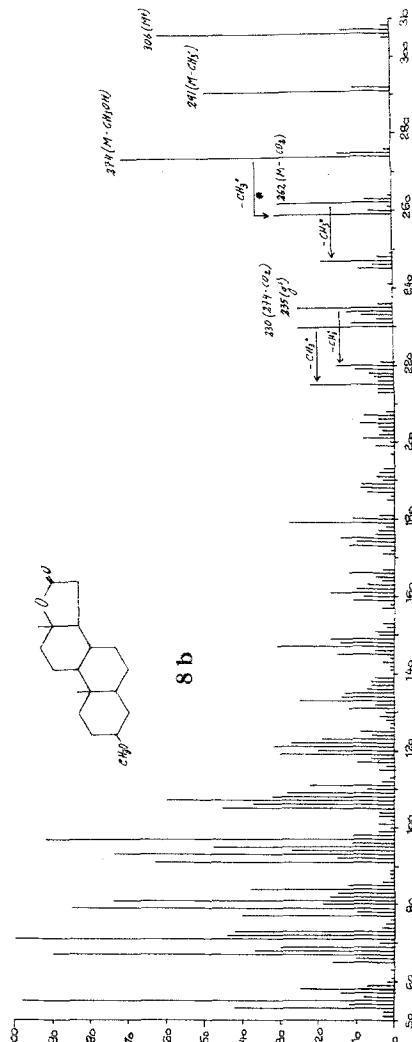
Im Falle von **8b** (Abb. 4) kann eine positive Ladung an C-13 durch den



Abt. 3



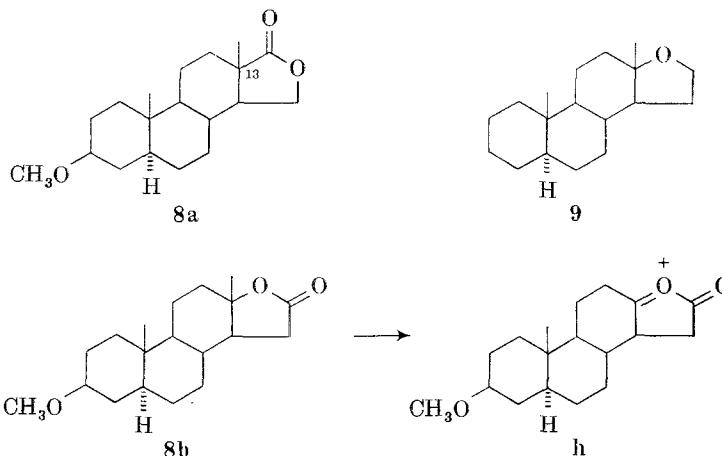
23



10

benachbarten Ringsauerstoff stabilisiert werden; dementsprechend wird lebhafte Fragmentierung in Ring D beobachtet: Wie nach dem bei α -ständig zum Ringsauerstoff substituierten einfachen Lactonen (vgl. die Ausbildung von a) zu erwarten, tritt bevorzugt Verlust einer Methylgruppe

vom Molekül-Ion ausgehend ein (**h**, 80% der Intensität des Molekül-Ions)¹¹. Beim analogen cyclischen Äther, dem 17-Oxa-5 α ,13 α -androstan (**9**), bei dem die durch die 3 β -Methoxylgruppe und den Lactonring von **8b** eingeleiteten zusätzlichen Fragmentierungsreaktionen wegfallen, ist Verlust einer Methylgruppe bei weitem das wichtigste Fragment (M^+ macht weniger als 1% von $M-15$ aus).



Von Bedeutung ist weiterhin der Verlust von CO_2 (m/e 262). Daneben treten die für **8a** beschriebenen Ring-A-Zerfallsreaktionen sowie die entsprechenden Kombinationen auf (s. Abb. 4).

Bei 17 α -Oxa-D-homo-5 α -androstan-17-on (**10**, Abb. 5) treten, da andere funktionelle Gruppen fehlen, die wichtigsten Fragmentierungsreaktionen im Lactonring auf: Ausgeprägter Verlust eines Methylradikals (vgl. **8b**) und Abspaltung von CO_2 (m/e 246) sowie von $\text{CO}_2 + \text{CH}_3$ (m/e 231) erfolgen wie erwartet. Der Basispeak erscheint bei m/e 218 ($\text{C}_{16}\text{H}_{26}$, ber. 218,203, gef. 218,206) und entspricht dem Verlust von Ring D (**i**). Die C-13-, C-14-Stereoisomeren von **10** liefern qualitativ die gleichen Massenspektren, jedoch mit bedeutenden quantitativen Unterschieden; die Intensitäten der wichtigsten Fragmente sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

¹¹ Dieser Befund erlaubte die strukturelle Zuordnung von **8a** und **8b**, die weiter durch NMR- und ORD-Messungen gestützt ist (Dissertation K. Schulze, Braunschweig, 1966). Noch drastischer ist der unterschiedliche Verlust eines Methylradikals bei den analogen Lactamen: Für 3 β -Methoxy-16-aza-5 α -androstan-17-on beträgt die Intensität des $M-15$ -Ions 8% derer von M^+ , für 3 β -Methoxy-17-aza-5 α -androstan-16-on macht M^+ weniger als 1% der Intensität des $M-15$ -Peaks aus.

Tabelle 1

<i>m/e</i>	Fragment	Verbindung		
		$13\beta, 14\beta$	$13\alpha, 14\alpha$	$13\beta, 14\alpha$ (10)
290	M^+	8,2	7,0	4,7
275	$M-CH_3^+$	4,9	29,3	11,3
246	$M-CO_2$	0,1	0,3	1,9
231	$M-CO_2-CH_3^+$	0,2	0,6	1,6
218	i	22,2	7,6	27,5
203	i- CH_3^+	3,6	1,5	3,6

Intensität der wichtigsten Fragmente der stereoisomeren 17 α -Oxa-D-homo-5 α -androstan-17-one (% $\Sigma = 100$).

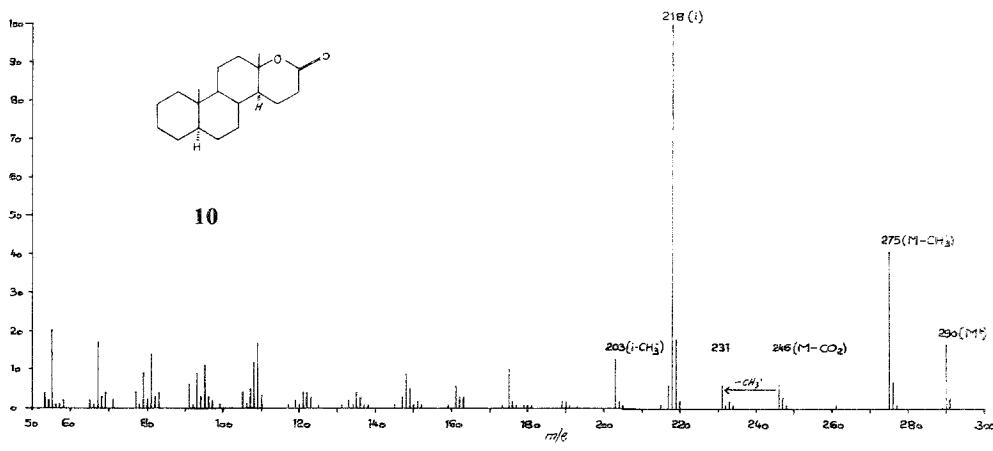
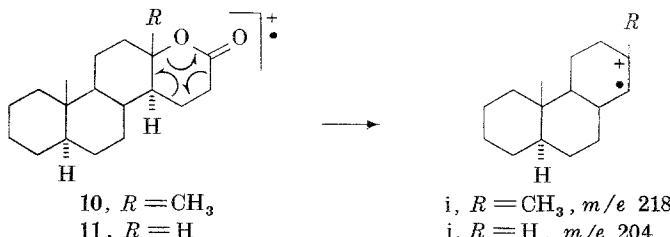


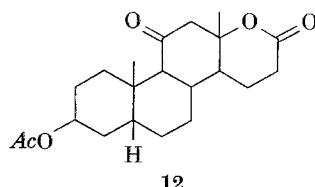
Abb. 5

Ähnlich drastische Unterschiede in den Intensitäten einzelner Bruchstücke wurden auch bei stereoisomeren Oestron- und Equileninderivaten beobachtet¹².



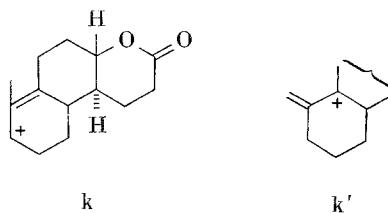
¹² C. Djerassi, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz und J. W. Chamberlin, J. Amer. Chem. Soc. **84**, 4544 (1962).

Daß von der Lactongruppierung eingeleitete Spaltungen nur so lange das Fragmentierungsmuster beherrschen, wie keine anderen konkurrierenden Gruppen vorhanden sind, zeigt das Verhalten von 3β -Acetoxy-17a-oxa-5 β -androstan-11,17-dion (12), bei welchem, ähnlich wie bei Ring-A-Lactonen, die Lactongruppierung praktisch ohne Einfluß ist. Bruchstückbildung geht bevorzugt von der 11-Ketogruppe (m/e 179, 181, 194, 207)^{8, 13} sowie von der Acetatfunktion (Verlust von Essigsäure und davon ausgehend Abspaltung von CH_3 , H_2O , CH_3^+ + H_2O und Butadien)¹⁴ aus.



12

17a-Oxa-18-nor-D-homo-5 α -androstan-17-on (11) besitzt an C-13 ein tertiäres Kohlenstoffatom; das quartäre C-10 ist daher ein konkurrierendes Zentrum für die Ladungsstabilisierung im Molekülion: Ausbildung von **j** (m/e 204, $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$, ber. 204,188, gef. 204,184) tritt daher zurück (20% rel. Int.). Verlust von Methyl vom Molekülion ausgehend (29%) und m/e 219 ergeben die wichtigsten Peaks im Spektrum von **11**. Ionen der Masse 219 können sowohl direkt aus dem Molekülion (m^* bei 173,8) als auch aus dem $M-15$ -Fragment (m^* bei 183,7) entstehen, woraus sich **k** und **k'** als plausible Formulierungen (vgl. **c**) ableiten lassen.



Steroide mit zusätzlichen Lactonringen

Zur Untersuchung von Derivaten des B-nor-Androstan-5 β -ol-6 β -carbonsäurelactons ($6' \rightarrow 5$) lagen 3β -Acetoxyverbindungen mit variierenden C-17-Substituenten vor, nämlich das Androstan-17-on, das Cholestan-

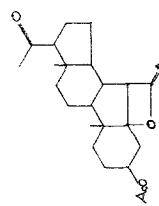
¹³ D. H. Williams, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 2091 (1963).

¹⁴ H. Audier, M. Fétizon und W. Vetter, Bull. Soc. Chim. France **1963**, 1971.

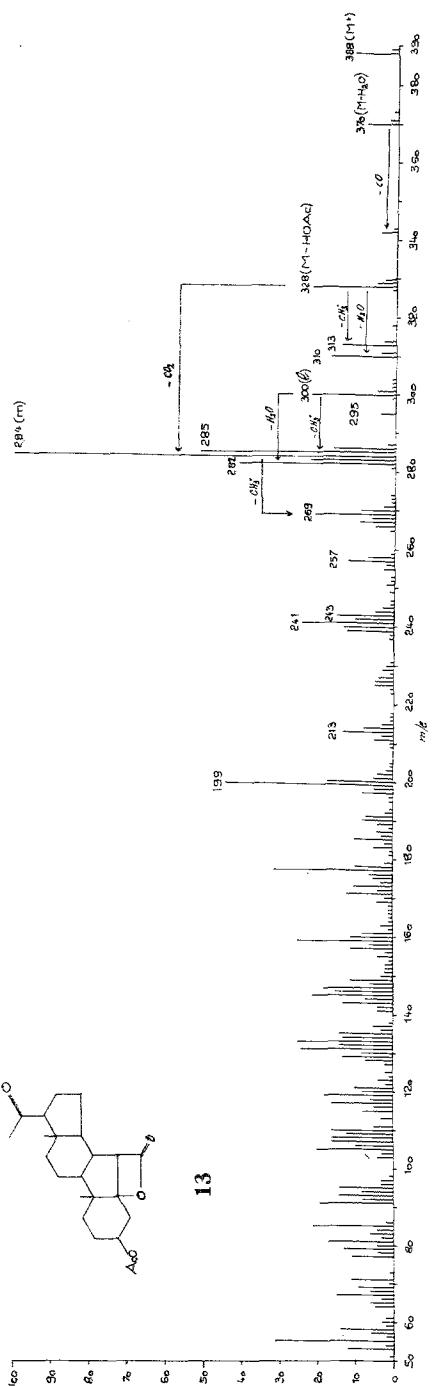
und das Pregnan-20-on-Derivat. Das letztere (13, Abb. 6) sei hier als typisches Beispiel besprochen. Vergleich der drei Massenspektren erlaubt vor allem, Ring-D-Fragmentierungen klar als solche zu erkennen.

Vom Molekülion von 13 ausgehend fällt der ausgeprägte Verlust von Wasser auf (m/e 370). Da nur 13 dieses Fragment aufweist, muß diese Abbaureaktion von der 20-Ketogruppe ausgehen; Pregnan-20-on selbst zeigt ebenfalls ein bedeutendes $M - H_2O^+$ Ion (20%). Verlust von Essigsäure führt zu m/e 328 und es ist zu bemerken, daß weiterer Abbau des Moleküls von diesem $M - 60$ -Ion aus in bedeutend intensivierem Ausmaß erfolgt als vom Molekülion ausgehend: Einführung der neuen Doppelbindung (im folgenden als Δ^3 formuliert) in Ring A führt zu besserer Stabilisierung von entstehender Ionen- bzw. Radikalstellen im Ring-B-Lacton-System.

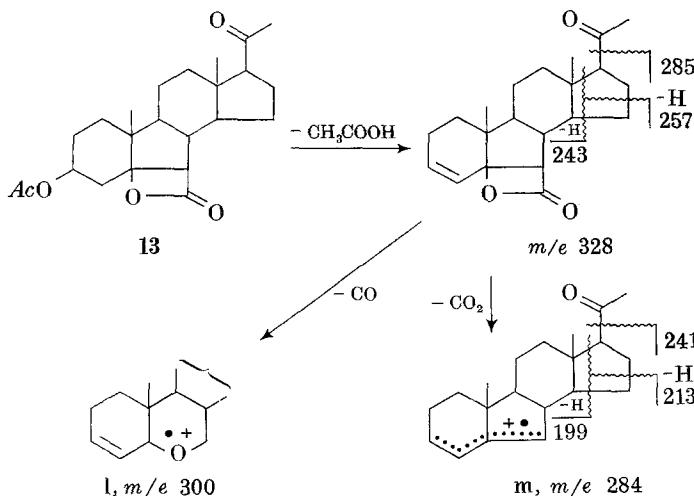
Verlust von CH_3^+ (*m/e* 313), H_2O (*m/e* 310) sowie $\text{CH}_3^+ + \text{H}_2\text{O}$ (*m/e* 295) bedürfen keines weiteren Kommentars. Von größerem Interesse ist die Fragmentierung des Lactonringes, die, wie zu erwarten, infolge der dem System innewohnenden Spannung stark hervortritt. Verlust von 28 Masseneinheiten (CO) führt wahrscheinlich unter gleichzeitiger Ringerweiterung zu einem 6-Oxasystem zu 1, das weiter CH_3^+ und H_2O



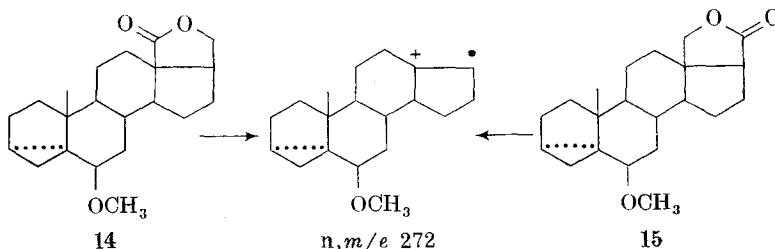
10



(m/e 285 und 282, $C_{20}H_{26}O$, ber. 282,198, gef. 282,196) verlieren kann. Für die Formulierung von 1 spricht auch, daß β -Propiolacton selbst kaum CO verliert⁴. Das wichtigste Fragment und gleichzeitig der Basispeak entsteht durch Verlust von CO_2 (**m**, m/e 284, $C_{20}H_{28}O$, ber. 284,214, gef. 284,212); **m** kann dann weiter noch eine Methylgruppe abspalten (m/e 269). Ring-D-Abbau geht sowohl von m/e 328 als auch von m/e 284 (**m**) aus und ist im Formelbild schematisch dargestellt (Massenmessungen wurden für m/e 241, $C_{18}H_{25}$, ber. 241,196; gef. 241,198 und 199, $C_{15}H_{19}$, ber. 199,149, gef. 199,151, durchgeführt).



Bei 6β -Methoxy- 17β -hydroxymethyl- 18 -nor- 3α , 5α -cycloandrostan- 13 -carbonsäurelacton-($18 \rightarrow 20$) (**14**) und dem isomeren 6β -Methoxy- 18 -hydroxy- 3α , 5α -cycloandrostan- 17 -carbonsäurelacton-($20 \rightarrow 18$) (**15**) ist die durch die Lactongruppierung ausgelöste Fragmentierung weniger ausgeprägt. $M-58$ (**n**, Verlust von CH_2OCO) macht nur etwa 30% rel. Int. aus. Die wichtigsten Bruchstücke der sehr ähnlichen Spektren von **14** und **15** sind durch Verlust von CH_3^+ , CH_3OH , $CH_3OH + CH_3^+$ und von Ring A ($M-C_4H_7^+$, m/e 275) entstanden.



Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Lactongruppierung im Steroidgerüst nicht als besonders bevorzugtes Zentrum primärer Ladungsstabilisierung fungiert (vgl. **2a**, **3a**) — wie etwa Ketal- oder Aminofunktionen¹⁵ — und damit nicht unabhängig von anderen Substituenten den Zerfall dirigiert. Ähnlich wie bei Steroidketonen ist dies nur der Fall, wenn konkurrierende Zentren fehlen (**10**) oder wenn infolge struktureller Eigenheiten wie Ringspannung (**13**), Nähe anderer stabilisierender Zentren (**8b**) u. ä. der Lactongruppe eine besondere Stellung im Molekül zukommt. In diesen Fällen folgen die Abbaureaktionen den allgemeinen Regeln für die Ausbildung stabiler Tochterionen und strukturelle Aussagen, wie etwa die Zuordnung von **8a** und **8b**, sind möglich.

Experimenteller Teil

Die Massenspektren wurden mit einem Atlas CH-4-Gerät mit direkter Probeneinführung bei 70 eV Ionisierungsenergie gemessen. Exakte Massenmessungen wurden mit einem MS-9-Gerät der Firma AEI, Manchester, durchgeführt.

¹⁵ Ref. 1, Kapitel 18.