

MASSENSPEKTROMETRISCHE FRAGMENTIERUNGSREAKTIONEN—VIII¹

CHARAKTERISTISCHE BRUCHSTÜCKE VON Δ^5 -3-HYDROXYSTEROIDEN

H. BUDZIKIEWICZ* und W. OCKELS

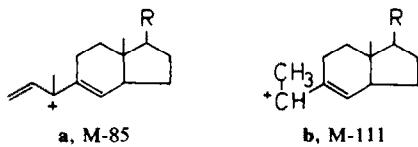
Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln, 5 Köln 41, Greinstraße 4, Germany

(Received in Germany 2 May 1975; Received in the UK for publication 18 August 1975)

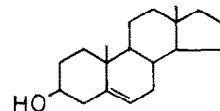
Abstract—The genesis of the fragments [M-85]⁺ and [M-111]⁺ typical for Δ^5 -3-hydroxysteroids has been elucidated by extensive deuterium labelling.

Zusammenfassung—Die Bildungsweise der für Δ^5 -3-Hydroxysteroide charakteristischen Fragmente [M-85]⁺ und [M-111]⁺ ist mit Hilfe von Deuteriummarkierung aufgeklärt worden.

In den letzten Jahren ist mit erheblichem Aufwand versucht worden, die Bildungsweise von für bestimmte Strukturelemente charakteristischen Fragmenten von Steroiden zu klären.² Erstaunlicherweise finden sich jedoch für die in natürlich vorkommenden Verbindungen wohl häufigste Struktureinheit - 3 - Hydroxy - 5 - en - typischen Bruchstücke (M-85 und M-111 für in den Ringen A/B nicht weiter substituierte Vertreter) in der Literatur nur Spekulationen bezüglich ihrer Entstehung,^{3,7} wobei explizit die folgenden Ionenstrukturen vorgeschlagen worden sind:⁶



Aus den bisherigen Arbeiten lässt sich jedoch nur als halbwegs sicher ableiten, dass [M-85]⁺ die Ringe C + D und weitere 4 C-Atome, [M-111]⁺ die Ringe C + D und weitere 2 C-Atome enthält. In der vorliegenden Untersuchung sollen nun Strukturen und Bildung dieser beiden Ionen sowie einiger weiterer Fragmente von **1a**, die nicht typisch für das Δ^5 -3-Hydroxy-System sind, möglichst weitgehend geklärt werden. Als Modellsubstanz wurde, Androst-5-en-3 β -ol (**1a**, Abb. 1) gewählt, das in allen relevanten Positionen mit D markiert werden konnte



1a: undeuteriert	1h: 4,4,6,8 β -d ₄
1b: 1 α -d ₁	1i: 9 α -d ₁
1c: 2,2,4,4-d ₄	1j: 11,11-d ₂
1b: 2,2,4 β -d ₃	1k: 15,15,17,17-d ₄
1e: 3 α -d ₁	1l: 16,16-d ₂
1f: 6-d ₁	1m: 17,17-d ₂
1g: 7,7-d ₂	1n: 19,19-D ₂

Ausserdem wurden die Spektren folgender Verbindungen ausgewertet:

- Androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**2**)
- 1 α -Methyl-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**3**)
- 19-Nor-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**4**) (Abb. 2)
- Cholest-5-en-3 β -ol (Cholesterin) (**5**)
- 4,4-Dimethyl-cholest-5-en-3 β -ol (**6**)
- 6-Methyl-cholest-5-en-3 β -ol (**7**)

Tabelle 1. Isotopenzusammensetzung der markierten Androst-5-en-3 β -ole (basisnormiert, ¹³C-korrigiert)

Androst-5-en-3 β -ol	d ₀	d ₁	d ₂	d ₃	d ₄	d ₅
1 α -d ₁ -	4·6	100·0	6·2	24·8	24·6	4·9
2,2,4 β -d ₃ -	7·3	24·6	80·0	100·0	3·5	—
2,2,4,4-d ₄ -	12·8	6·5	24·0	69·8	100·0	37·9
3 α -d ₁ -	17·5	100·0	3·7	2·9	—	—
6-d ₁ -	6·4	100·0	9·4	—	—	—
7,7-d ₂ -	8·5	5·6	100·0	2·8	—	—
4,4,6,8 β -d ₄ -	67·6	6·0	18·6	58·1	100·0	6·9
4,4,6,8 β -d ₄ - [‡]	—	1·1	19·3	58·9	100·0	6·9
9 α -d ₁ -	95·2	100·0	9·5	5·9	—	—
9 α -d ₁ - [‡]	—	100·0	9·6	6·0	—	—
11,11-d ₂ -	11·5	32·3	100·0	3·6	1·9	—
15,15,17,17-d ₄ -	3·7	2·6	14·3	31·5	100·0	1·4
16,16-d ₂ -	4·9	7·7	100·0	4·9	—	—
17,17-d ₂ -	9·7	12·8	100·0	13·1	—	—
19,19-d ₂ -	3·7	4·5	100·0	1·3	1·8	—

[‡]Durch Subtraktion des d₀-Spektrums.

m/e 163 (M-111), C₁₂H₁₉O

Bei Betrachtung von Tabelle 2 fällt auf, dass das

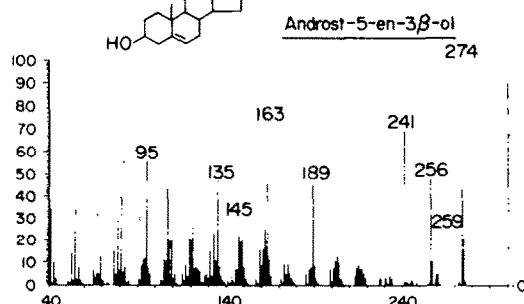
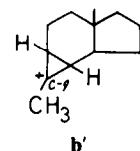
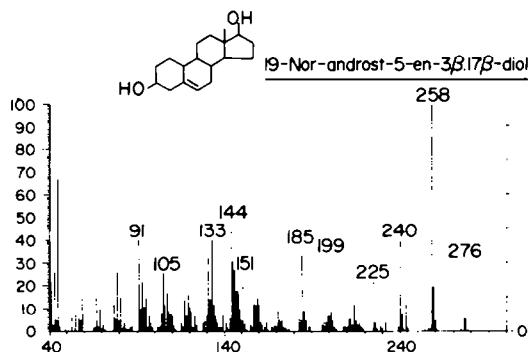


Abb. 1. Massenspektrum von Androst-5-en-3 β -ol.

(**1b–1n**). Die Isotopenzusammensetzung der einzelnen Verbindungen ergibt sich aus Tabelle 1.

Abb. 2. Massenspektrum von 19-Nor-androst-5-en-3 β ,17 β -diol.

Fragment in seiner Masse entweder nahezu quantitativ nicht verschoben wird oder aber vollständige Verschiebung entsprechend der Isotopenverteilung stattfindet (um diesen Vergleich zu erleichtern, sind die Deuterierungsgrade in Tabelle 1 basisnormiert angegeben). Eine Ausnahme macht **1h**: Unter Berücksichtigung der unvollständigen Deuterierung ergibt sich, dass im ionisierten Fragment 1 D verbleibt; wie Vergleich mit **1c** und **1f** zeigt, handelt es sich hierbei um das an C-8 gebundene D (daraus folgt aber auch, dass die zu hohen Werte von m/e 165 und 166 durch Untergrund oder wegen der geringen Intensitäten durch Subtraktionsfehler bei Korrektur für d_0 zustande gekommen sind).

Die Deuterierungsergebnisse lassen den Schluss zu, dass—zumindest zum weitaus überwiegenden Teil—in $[M-111]^-$ die Ringe C + D und C-10 + C-19 enthalten sind (vergl. **b**), es aber nicht in der von Wulfson⁷ angenommen Weise (Verlust des H von C-9 und Rückübertragung eines H von C-2: **1c** und **1d** zeigen, dass beide H von C-2 verloren werden, **1i**, dass das H von C-9 erhalten bleibt; wenn der Wulfson'sche Bildungsmechanismus eine Rolle spielt, muss sein Anteil unter 10% liegen) gebildet wird.

Nimmt man für $[M-111]^-$ die Struktur **b** an, so müsste eine H-Wanderung von C-9 nach C-10 stattgefunden haben, die natürlich durch D-Markierung nicht nachweisbar ist. Als Alternative kann man **b'** diskutieren.

In Einklang mit den beschriebenen Markierungsergebnissen ist ein m^* für $M^+ \rightarrow m/e$ 163. Daneben treten aber noch zwei weitere m^* auf, und zwar für $[M-'CH_3]^- \rightarrow 163$

und für $[M-'CH_3-H_2O]^- \rightarrow 163$. Da bei einfachen Steroiden $[M-'CH_3]^+$ praktisch nur durch Verlust einer der beiden angulären Methylgruppen gebildet wird,⁸ C-19 bei der Bildung von m/e 163 aber nicht verloren wird (**1n**, vergl. auch unten), müssen den beiden zusätzlichen Prozessen komplexe Mechanismen zugrunde liegen, die aber, wie die Markierungsversuche zeigen, nur von untergeordneter Bedeutung sein können.

Einfluss weiterer Substituenten: Die Bildung von **b** wird unterdrückt oder zumindest stark zurückgedrängt, wenn die Fragmentierung des Moleküls durch spezielle Strukturelemente beherrscht (z.B. Steroidalkaloide, Sapogenine, 3-OTMS usw.), aber auch, wenn ein C-3-Substituent bevorzugt eliminiert wird (3-OAc). Ebenso fehlt M-111 bei 19-Nor-Verbindungen (Abb. 2), wohl bedingt durch die nunmehr weniger günstige Spaltung der C-1-C-10-Bindung. Ansonsten haben die Art der Substitution an C-17, Methylgruppen an C-1, C-4 und C-6 sowie Ersatz von C-3-OH durch H bzw. = O (abgesehen von den entsprechenden Massenverschiebungen) nur Einfluss auf die relative Intensität des Ions, das jedoch stets deutlich zu erkennen ist (vergl. auch⁹).

m/e 189 ($M-65$), $C_{14}H_{21}^+$

Für die Bildung dieses Ions wird nur ein m^* für $M^+ \rightarrow m/e$ 189 beobachtet. Die Markierungsergebnisse (Tabelle 3) zeigen, dass C-19 (damit wohl auch C-10) und C-7 sowie die Ringe C und D mit ihren H-Atomen in dem Fragment enthalten sind, während C-1 (s. **16** sowie das 1-Methyl-Derivat) sowie C-2-C-4 (**1c** und **1e**) abgespalten sind. Diese Ergebnisse stehen bereits im Widerspruch zu der Spiteller'schen⁶ Formulierung **a**. **M-85** hat somit C-1 bis C-4 und C-5 oder C-6 verloren, wobei die erste Variante wahrscheinlicher ist. Das an C-6 gebundene H wird zu etwa 2/3 eliminiert (**1f**, **1h**). In Einklang damit steht, dass eine C-6-Methylgruppe diesen Fragmentierungsprozess unterdrückt. Schematisch liese sich die Bildung des Hauptbestandteils von $[M-85]^+$ somit folgen-

Tabelle 2. ^{13}C -Korrigierte Intensitäten (%) der Peakgruppe um m/e 163, basisnormiert

Androst-5-en-3 β -ol	m/e 157	m/e 158	m/e 159	m/e 160	m/e 161	m/e 162	m/e 163	m/e 164	m/e 165	m/e 166	m/e 167	m/e 168
d_0	5.0	1.3	23.2	10.9	23.8	33.2	100.0	3.0	5.2	1.2	—	—
$1\alpha\text{-}d_1$	3.3	2.9	10.7	18.7	23.1	41.3	100.0	9.8	2.2	6.2	2.8	—
$2,2,4\beta\text{-}d_3$	3.3	2.0	7.1	7.3	17.1	38.1	100.0	7.9	2.2	2.1	1.3	0.6
$2,2,4,4\text{-}d_4$	3.6	2.2	8.3	6.4	14.1	35.9	100.0	13.8	8.5	4.0	2.4	1.1
$3\alpha\text{-}d_1$	5.1	3.9	13.1	22.2	20.3	39.9	100.0	7.5	2.7	1.9	1.2	—
$6\text{-}d_1$	4.3	3.6	11.3	24.2	17.1	36.2	100.0	5.8	2.6	1.7	1.1	—
$7,7\text{-}d_2$	1.7	3.2	6.4	10.6	20.8	28.6	100.0	9.4	3.6	1.2	—	—
$4,4,6,8\beta\text{-}d_4\ddagger$	13.0	7.0	26.3	24.6	28.9	37.5	84.9	100.0	26.9 \ddagger	36.8 \ddagger	4.8	2.2
$9\alpha\text{-}d_1\ddagger$	6.4	4.3	18.5	28.7	13.1	11.1	28.7	100.0	—	2.8	—	—
$11,11\text{-}d_2$	5.1	4.4	11.3	17.2	29.2	20.7	36.3	54.8	100.0	3.4	—	—
$15,15,17,17\text{-}d_4$	8.6	7.1	37.3	25.8	27.1	12.7	16.9	12.7	33.5	60.1	100.0	3.6
$16,16\text{-}d_2$	4.7	2.7	26.9	14.3	18.6	5.9	16.0	33.6	100.0	6.3	0.7	—
$17,17\text{-}d_2$	6.1	4.0	30.8	19.0	19.9	9.8	23.8	38.6	100.0	16.0	1.4	0.5
$19,19\text{-}d_2$	6.6	2.4	26.1	6.5	23.2	20.1	20.4	28.1	100.0	2.0	1.8	—

[†]s. Fussnote Tabelle 1.[‡]s. Text.

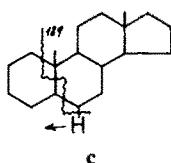
Tabelle 3. ^{13}C -Korrigierte Intensitäten (%) der Peakgruppe um m/e 189, basisnormiert

Androst-5-en- β -ol	m/e 185	m/e 186	m/e 187	m/e 188	m/e 189	m/e 190	m/e 191	m/e 192	m/e 193	m/e 194
d ₀	11.1	1.2	16.8	15.3	100.0	5.2	4.0	1.5	—	—
1 α -d ₁	5.8	6.3	10.4	14.1	100.0	11.8	2.9	2.3	1.1	—
2,2,4 ξ -d ₃	5.6	4.8	10.4	18.6	100.0	5.8	1.3	0.8	12.3	5.4
2,2,4,4-d ₄	6.4	5.4	9.7	18.1	100.0	9.3	2.7	1.1	—	—
3 α -d ₁	7.1	6.7	10.2	13.2	100.0	4.3	3.8	2.2	—	—
6-d ₁	10.7	10.9	8.9	23.5	100.0	43.3	2.9	2.6	1.9	—
7,7-d ₂	2.6	10.1	12.9	8.4	19.7	25.9	100.0	2.7	1.1	—
4,4,6,8 β -d ₄	18.5	11.2	16.7	28.1	87.6	100.0	60.4	35.7‡	70.1‡	6.9
9 α -d ₁ †	11.6	7.7	2.5	14.6	36.1	100.0	2.8	0.4	—	—
11,11-d ₂	6.2	6.3	11.4	8.5	25.4	40.5	100.0	2.8	—	—
15,15,17,17-d ₄	4.8	3.1	10.2	6.2	14.5	9.4	27.6	45.4	100.0	3.6
16,16-d ₂	4.4	2.5	10.9	3.9	13.7	21.0	100.0	5.7	1.1	—
17,17-d ₂	6.0	3.9	12.5	5.8	19.9	25.6	100.0	16.0	1.1	—
19,19-d ₂	13.5	3.4	11.5	11.8	8.5	13.6	100.0	2.5	1.2	—

† s. Fussnote Tabelle 1.

‡ s. Text (m/e 163).

dermassen formulieren (c):



Eine Spekulation über Struktur des Ions und seinen Bildungsmechanismus soll hier unterbleiben.

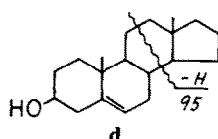
Einfluss weiterer Substituenten

Strukturelle Veränderungen beeinflussen die Bildung von c bedeutend stärker als die von b. Zusätzlich zu den dort angeführten Fällen wird sie unterdrückt bei Anwesenheit einer 6-Methyl-, einer 3-Keto- und aus nicht klar ersichtlichen Gründen einer 16-Ketogruppe (vergl. auch⁷).

Die folgenden Ionen sind nicht typisch für das Δ^5 -3 β -ol-System, ihre Genese konnte aber mit Hilfe der deuterierten Analogen von 1a weitgehend geklärt werden (vergl. Tabelle 4).

m/e 95, $C_{10}H_{15}$

Dieses Ion entsteht (m^*) aus m/e 109, 123, 137, 163, 189, 215 und 241. Von diesen enthalten m/e 163, 189 und 241 Ring D, über die übrigen kann wegen ihrer geringen Intensität nichts ausgesagt werden. Bei allen Ring-D-markierten Verbindungen wird m/e 95 zu etwa 60% um 2 (1l, 1m) bzw. 4u (1k) verschoben. Ansonsten lässt nur 1n (19,19-d₂) eine teilweise Verschiebung um 2u erkennen. Der Hauptteil von m/e 95 enthält somit C-12-C-18(d), der Rest verteilt sich wohl auf unterschiedliche Strukturen.



m/e 135, $C_{10}H_{15}^+$

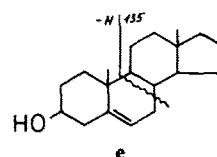
Dieses Ion entsteht (m^*) aus m/e 149, 163, 217 und 241. Markierung an C-15, C-16 und C-17 führt jeweils zu einer Verschiebung von etwa 70%, an C-8 und C-9 von etwa 40%. In C-17-substituierten Verbindungen werden analoge Fragmente gefunden (z.B. m/e 247 bei Choleste-

Tabelle 4. Verschiebungen (Hauptanteil)†

Androst-5-en- β -ol	m/e 95	m/e 135	m/e 145	m/e 163	m/e 189
1 α -d ₁	—	—	+	—	—
2,2,4 ξ -d ₃	—	—	+	—	—
2,2,4,4-d ₄	—	—	+	—	—
3 α -d ₁	—	—	+	—	—
6-d ₁	—	—	+	—	—
7,7-d ₂	—	—	+	—	+
4,4,6,8 β -d ₄	—	+	+	+	+
9 α -d ₁	—	+	+	+	+
11,11-d ₂	—	+	+	+	+
15,15,17,17-d ₄	+	+	—	+	+
16,16-d ₂	+	+	—	+	+
17,17-d ₂	+	+	—	+	+
19,19-d ₂	—	—	—	+	+
Androst-5-en- 3 β -ol	0	m/e	m/e	m/e	m/e
3 β ,17 β -diol	0	133	145	179	205
1 α -Methyl-	0	—	+	—	—
19-Nor-	0	—	0	0	0
Cholest-5-en- β -ol	m/e 0	m/e 247	m/e 145	m/e 275	m/e 301
6-Methyl-	0	—	+	—	0
4,4-Dimethyl-	0	—	+	—	—

† — keine Verschiebung beobachtet; + Verschiebung beobachtet; ○ Fragment fehlt.

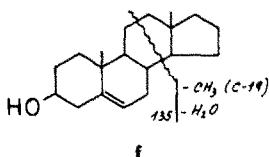
rin). Der Hauptteil von m/e 135 umfasst somit die Ringe C + D unter Rückübertragung von 1 H, offensichtlich bevorzugt aus Positionen in Nachbarschaft der Bruchstellen (e), der Rest verteilt sich wieder auf unterschiedliche Strukturen (Markierung in den Ringen A und B führt zu Verschiebungen von höchstens 10%).



m/e 145, $C_{11}H_{13}^+$

Dieses Ion entsteht (m^*) aus m/e 160, 174, 188, 202, 216, 241, 259. Verschiebungen werden nur beobachtet bei

Markierung von C-1-C-4, C-6-C-9 und C-11. Diese machen bei **1b**, **1e** und **1f** etwa 65% aus; bei den übrigen genannten Positionen lassen sie sich nicht quantitativ bestimmen, da z.T. Überlappung mit der nächst höheren Peakgruppe (m/e 147-150 bei **1a**) erfolgt. Methylgruppen an C-4 und C-6 führen zu entsprechenden Massenverschiebungen. Der Hauptteil von m/e 145 umfasst somit die Ringe A und B (ohne C-19) minus H₂O (f).



m/e 241, 256 und 259

Diese Ionen entstehen wie erwartet durch Verlust der angulären Methylgruppen, wobei C-19 (**1n**) etwas bevorzugt zu sein scheint, und von H₂O, wobei das zweite H von keiner der markierten Stellen bevorzugt verloren wird (ein wahrscheinlicher Kandidat wäre das 1 β -H°).

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Spektren wurden mit dem Massenspektrometer Varian MAT 731 aufgenommen (Direkteinlass, Probentemperatur bei Androstenolen zwischen 50 und 70°, bei den übrigen Steroiden zwischen 85 und 100°; Quellentemperatur 250°; Elektronenenergie 100 eV). Metastabile Übergänge wurden nach der Defokus-

sierungsmethode gemessen. Elementarzusammensetzungen von Ionen (im Text durch Summenformeln angegeben) wurden durch exakte Massenmessungen bestimmt (Abweichungen vom berechneten Wert < 2 ppm).

Die Darstellung der markierten Verbindungen ist in der begleitenden Arbeit¹⁰ beschrieben.

Interessenten können Kopien der Massenspektren der in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen von den Autoren erhalten.

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchten wir für das zur Verfügung gestellte Massenspektrometer mit Datensystem, dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung bestens danken.

LITERATUR

- ¹B. Johannes, H. Brzezinka und H. Budzikiewicz, *Org. Mass Spectrom.* **9**, 1095 (1974).
- ²S. z.B. H. Budzikiewicz, *Biochemical Applications of Mass Spectrometry* (Hrsg. von G. R. Waller, ed.), Kap. 10. Wiley, New York (1972).
- ³V. I. Zaretskii, N. S. Wulfson, V. G. Zaikin, G. M. Segal, L. V. Torgov und T. P. Fradkina, *Tetrahedron Letters* 3015 (1964).
- ⁴V. I. Zaretskii, N. S. Wulfson, V. G. Zaikin und I. B. Papernaya, *Khim. Prirod. Soedin.* **3**, 383 (1967).
- ⁵B. A. Knights, *J. Gas Chromatography* **5**, 273 (1967).
- ⁶M. Spiteller-Friedman und G. Spiteller, *Org. Mass Spectrom.* **1**, 231 (1968).
- ⁷N. S. Wulfson und V. G. Zaikin, *Usp. Khim.* **42**, 1379 (1973).
- ⁸L. Tökés und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 5017 (1969).
- ⁹J. Karliner, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **31**, 710 (1966).
- ¹⁰W. Ockels und H. Budzikiewicz, *Tetrahedron* **32**, 133 (1976).