

HANS BROCKMANN JR. \*, HERBERT BUDZIKIEWICZ \*,  
CARL DJERASSI \*, HANS BROCKMANN \*\* und JÜRGEN NIEMEYER \*\*

Massenspektroskopie und ihre Anwendung auf strukturelle und stereochemische Probleme, LXI<sup>1)</sup>; Antibiotica aus Actinomyceten, L 2.<sup>3)</sup>

## Das massenspektroskopische Fragmentierungsverhalten der Anthracyclinone

Aus dem Department of Chemistry, Stanford University, California, USA \*  
und dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen \*\*

(Eingegangen am 12. Oktober 1964)

An Hand der Massenspektren aller bisher bekannten Anthracyclinone sowie einiger Derivate werden die Zerfallsmechanismen der verschiedenen Anthracyclinontypen diskutiert. Ein Hochauflösungsspektrum von 7-Desoxy-aklavinon bestätigt die angenommene Elementarzusammensetzung der wichtigen Fragmente.

Die von zahlreichen *Streptomyces*-Stämmen gebildeten Anthracyclinone<sup>4)</sup> sind eine Gruppe von Hydroxyanthrachinon-Farbstoffen, von denen einige als Aglykone in den als Anthracycline bezeichneten Antibiotica vorkommen<sup>4,5)</sup>. Alle bekannten Anthracyclinone sind Derivate des 7.8.9.10-Tetrahydro-tetracenchinons-(5.12) (I), in denen die *peri*-ständigen C-Atome des Anthrachinonsystems mit zwei, drei oder vier Hydroxygruppen verknüpft sind. Der hydroaromatische Ring A kann ferner durch eine Alkyl-, Methoxycarbonyl- und maximal drei Hydroxygruppen verschiedenartig substituiert sein. Die im folgenden zu besprechende massenspektroskopische Fragmentierung tritt vornehmlich im aliphatischen Teil der Moleküle ein. Die charakteristischen Bruchstücke sind daher im oberen Massenbereich zu finden, und nur dieser ist in den meisten Abbildungen wiedergegeben.

Die ersten Massenspektren von Anthracyclononen wurden in Zusammenarbeit von H. BROCKMANN JR.<sup>6)</sup> und R. I. REED und W. K. REID<sup>7)</sup> gemessen; eine eingehende Interpretation des Fragmentierungsmusters wurde aber erst möglich, als in Stanford

<sup>1)</sup> LX. Mitteil.: Z. PELAH, D. H. WILLIAMS, H. BUDZIKIEWICZ und C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. **87**, 574 [1965].

<sup>2)</sup> XLIX. Mitteil.: H. BROCKMANN, P. BOLDT und J. NIEMEYER, Chem. Ber. **96**, 1356 [1963].

<sup>3)</sup> Isolierung und Eigenschaften der hier untersuchten, bisher unbekanntenen Anthracyclinone ( $\alpha$ -Rhodomycinon,  $\beta_1$ -Rhodomycinon, 10-Desoxy- $\gamma$ -rhodomycinon): H. BROCKMANN, J. NIEMEYER, H. BROCKMANN JR. und H. BUDZIKIEWICZ, in Vorbereitung.

<sup>4)</sup> H. BROCKMANN und H. BROCKMANN JR., Chem. Ber. **96**, 1771 [1963].

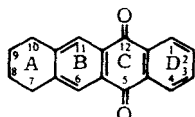
<sup>5)</sup> Zusammenfassung: H. BROCKMANN, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] **21**, 121 [1963].

<sup>6)</sup> Dissertat. Univ. Göttingen 1963.

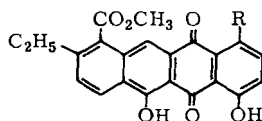
<sup>7)</sup> Tetrahedron [London] **19**, 1817 [1963].

weitere Spektren aufgenommen wurden, darunter ein Hochauflösungsspektrum, aus dem die eindeutige Elementarzusammensetzung der wichtigsten Ionen hervorging. Damit sind nun die Massenspektren aller bisher in kristallisierter Form isolierten Anthracyclinone bekannt. Bemerkenswert ist, daß die Übereinstimmung der Fragmentierungsmuster in den mit vier verschiedenen Instrumenten (AEI MS-2<sup>7)</sup>, CEC 21-103 C<sup>8)</sup>, ATLAS CH-4<sup>8)</sup> und AEI MS-9<sup>8)</sup>) aufgenommenen Spektren äußerst befriedigend ist. Kleine Unterschiede treten nur in der Intensität einiger Peaks auf, die Dehydrierungen und Dehydratisierungen entsprechen, Reaktionen, die auch schon vor der Ionisierung allein durch thermische Zersetzung eintreten können.

Sehr einfache Massenspektren erhält man von vollaromatischen Derivaten, die durch doppelte Dehydratisierung aus Anthracyclinen entstehen können. Bisanhydroaklavinon (II)<sup>9,10)</sup> und  $\eta$ -Pyrromycinon<sup>11,12)</sup> (III) haben sehr ähnliche Spektren (Abbild. 1 und 2), die gegeneinander um 16 Masseneinheiten verschoben sind (wegen der zusätzlichen Hydroxygruppe in III).



I



II: R = H

III: R = OH

Die Abspaltung eines Methylradikals ( $M-15$ ) von der Äthylseitenkette, die Eliminierung eines Methoxyradikals ( $M-31$ ) und von Methanol ( $M-32$ ) (bewirkt durch den „Ortho-Effekt“<sup>13)</sup> der benachbarten Äthylgruppe) von der Methoxycarbonylgruppe, sowie der Verlust der Methoxycarbonylgruppe selbst ohne ( $M-59$ ) und mit ( $M-60$ ) Wasserstoffumlagerung sind leicht verständlich.

Ionen sehr geringer Intensität treten bei  $M-45$  und  $M-49$  auf. Sie können durch gleichzeitige Abspaltung eines Methylradikals und von Formaldehyd aus der Methoxycarbonylgruppe ( $M-45$ ) bzw. durch Abspaltung eines Methoxyradikals und anschließende Dehydratisierung erklärt werden. Mit diesen Reaktionen sind die Zerfallsmöglichkeiten des Ringes A erschöpft, und es ist nur noch die allgemein für Hydroxyanthrachinone charakteristische Eliminierung von Kohlenmonoxid<sup>14)</sup> zu beobachten. Die Intensität der dabei entstehenden Ionen ist allerdings sehr gering.

<sup>8)</sup> Chemistry Department, Stanford University, Calif., USA.

<sup>9)</sup> J. J. GORDON, L. M. JACKMAN, W. D. OLLIS und I. O. SUTHERLAND, *Tetrahedron Letters* [London] **1960**, Nr. 8, 28.

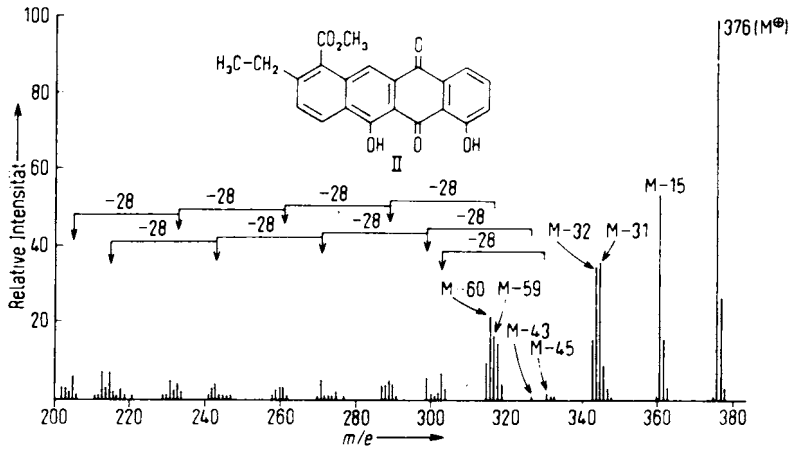
<sup>10)</sup> Für die Überlassung von Aklavinon, 7-Desoxy-aklavinon und Bisanhydro-aklavinon sind wir Herrn Prof. Dr. W. D. OLLIS, Sheffield, zu großem Dank verpflichtet.

<sup>11)</sup> H. BROCKMANN und W. LENK, *Chem. Ber.* **92**, 1880 [1959].

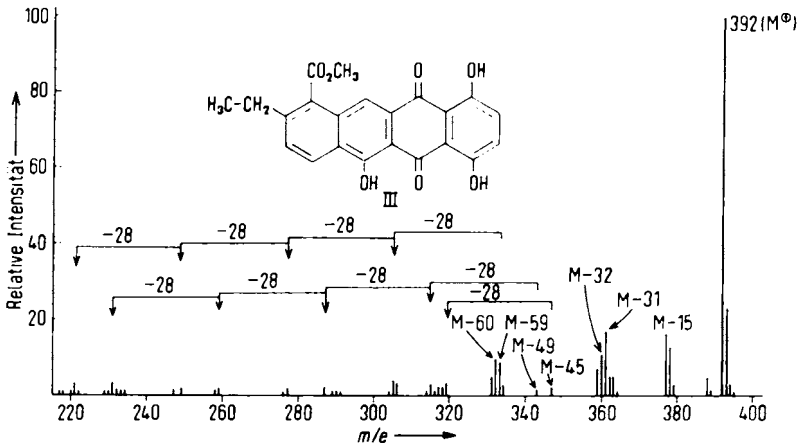
<sup>12)</sup> H. BROCKMANN, H. BROCKMANN JR., J. J. GORDON, W. KELLER-SCHIERLEIN, W. LENK, W. D. OLLIS, V. PRELOG und I. O. SUTHERLAND, *Tetrahedron Letters* [London] **1960**, Nr. 8, 25.

<sup>13)</sup> H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI und D. H. WILLIAMS, *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds*, S. 194–196, Holden-Day, Inc., San Francisco 1964.

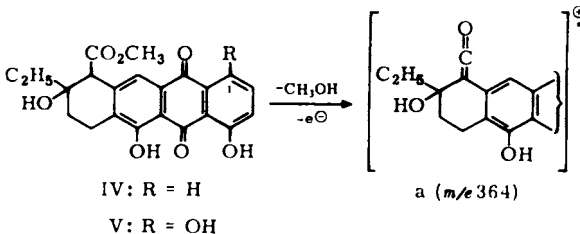
<sup>14)</sup> J. H. BEYNON und A. E. WILLIAMS, *Appl. Spectroscopy* **14**, 156 [1960].



Abbild. 1. Massenspektrum von Bisanthroaklavon (II)



Abbild. 2. Massenspektrum von η-Pyromycinon (III)



7-Desoxy-aklavonon (IV)<sup>15,16</sup> und ζ-Pyromycinon (V)<sup>11,17</sup> unterscheiden sich wie II und III ebenfalls nur durch eine phenolische Hydroxygruppe an C-1 und haben die gleiche Konstitution des Ringes A. Da von IV ein Hochauflösungsspektrum gemessen

<sup>15</sup>) W. D. OLLIS, I. O. SUTHERLAND und P. L. VEAL, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 349.

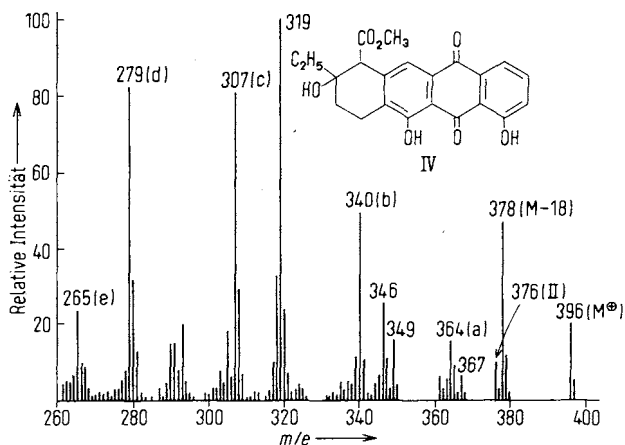
<sup>16</sup>) W. D. OLLIS und I. O. SUTHERLAND in „Recent Developments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds“ (Herausgeber W. D. OLLIS), Pergamon Press, New York 1961.

<sup>17</sup>) H. BROCKMANN und W. LENK, Naturwissenschaften 47, 135 [1960].

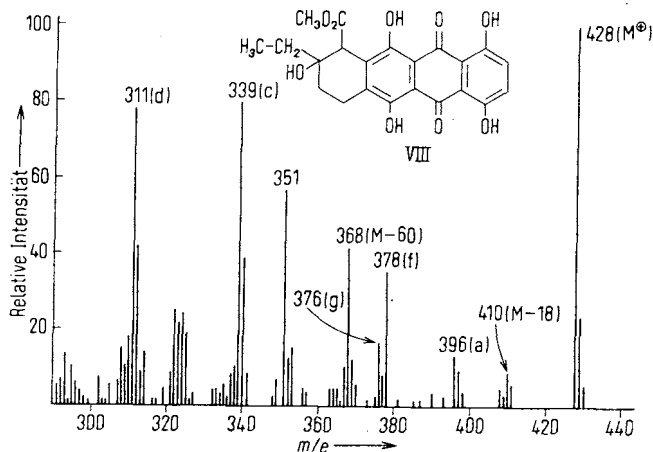
worden ist, sollen die Fragmentierungsprozesse am Beispiel dieser Verbindung illustriert werden. Die Elementarzusammensetzung der genau ausgemessenen Ionen ist im folgenden bei den entsprechenden Massenzahlen angegeben.

Da 7-Desoxy-aklavinon (IV) nur eine aliphatische Hydroxygruppe enthält, kann eine Aromatisierung nur durch Wasserabspaltung und anschließende Dehydrierung erreicht werden. Das entstehende Ion ( $\text{II}^\oplus$ ,  $m/e$  376) ist wenig intensiv und sein weiterer Zerfall (z. B.  $m/e$  376— $\text{CH}_3 \rightarrow m/e$  361), der bereits besprochen wurde, spielt eine untergeordnete Rolle.

Leicht verständlich ist die Abspaltung eines Äthylradikals oder von Methanol, die vom Molekül-Ion ( $m/e$  396) zu  $m/e$  367 oder zu  $a = \text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6 = m/e$  364 führt (bzw. von einem  $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$ -Ion ( $m/e$  378 =  $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_6$ ) zu  $m/e$  349 =  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{O}_6$  oder zu  $m/e$  346 =  $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{O}_5$ ); ebenso die Abspaltung der Methoxycarbonylgruppe vom M-18-Fragment zu  $m/e$  319 =  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{O}_4$ .

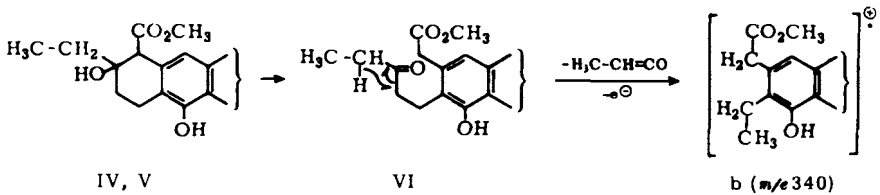


Abbild. 3. Massenspektrum von 7-Desoxy-aklavinon (IV)

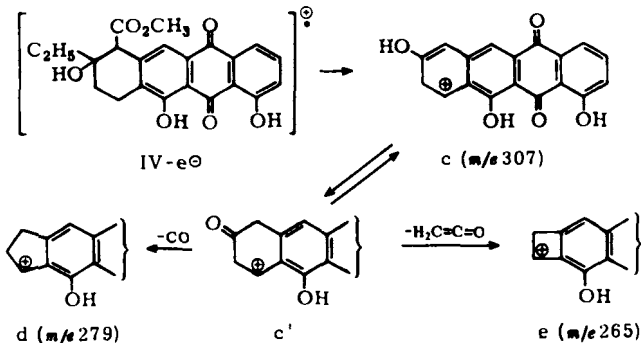


Abbild. 4. Massenspektrum von ζ-Iso-rhodomycinon (VIII)

Weniger übersichtlich ist der Ursprung eines Bruchstückes der Masse 340 ( $M-56 = C_{19}H_{16}O_6$ ), das durch den Verlust von  $C_3H_4O$  aus dem Molekül-Ion entstanden sein muß. Unter Pyrolysebedingungen kann  $\zeta$ -Pyrromycinon (V) das Keton VI bilden<sup>16)</sup>, in dessen Massenspektrum<sup>5,6)</sup> ein  $M-56$ -Fragment nach dem Molekül-Ion die größte Intensität aufweist. Nimmt man an, daß im Massenspektrometer eine ähnliche Retroaldolisierung eintritt, so könnte der weitere Zerfall dieses Intermediärproduktes unter Wasserstoffumlagerung b ( $m/e$  340 =  $C_{19}H_{16}O_6$ ) geben.



Verliert das Molekül-Ion ein Äthylradikal *und* die Methoxycarbonylgruppe zusammen mit einem zusätzlichen Wasserstoffatom, möglicherweise in der Form von Methylformiat, so bildet sich ein Ion der Masse 307 ( $C_{18}H_{11}O_5$ ), willkürlich als c formuliert, dessen Ketoform c' durch Eliminierung von Kohlenmonoxid d ( $m/e$  279 =  $C_{17}H_{11}O_4$ ) und nach Abspaltung von Keten ein Fragment der Masse 265 ( $C_{16}H_9O_4$ ) geben kann, für das e eine mögliche Formulierung ist.



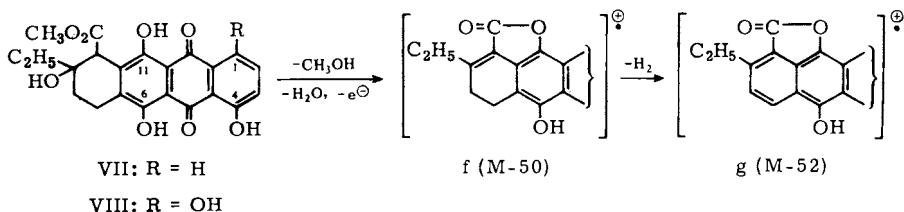
Drei Fragmente geringer Intensität,  $m/e$  305 =  $C_{19}H_{13}O_4$ ,  $m/e$  293 =  $C_{17}H_9O_5$  und  $m/e$  291 =  $C_{18}H_{11}O_4$ , werden auch, um 16 Masseneinheiten verschoben, im Spektrum von  $\zeta$ -Pyrromycinon beobachtet, ein einleuchtender Mechanismus für ihre Entstehung kann aber nicht gegeben werden.

In  $\zeta$ -Rhodomycinon (VII)<sup>18)</sup> und  $\zeta$ -Iso-rhodomycinon (VIII)<sup>19)</sup> führt die Anwesenheit einer Hydroxygruppe an C-11 in *peri*-Stellung zur Methoxycarbonylgruppe zu einer weiteren interessanten Zerfallsreaktion. Nach Wasserabspaltung kann eine Lactonisierung zu f eintreten, dessen Dehydrierungsprodukt g vollaromatisch ist.

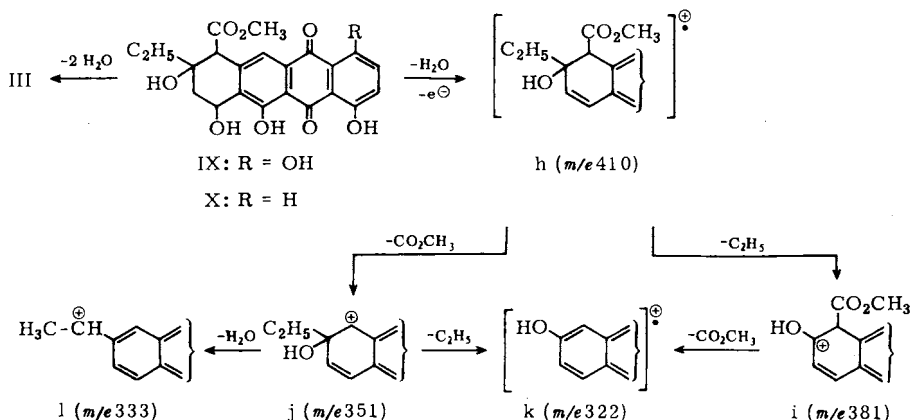
<sup>18)</sup> H. BROCKMANN und H. BROCKMANN JR., a) Naturwissenschaften 48, 161 [1961]; b) Chem. Ber. 94, 2681 [1961].

<sup>19)</sup> H. BROCKMANN und P. BOLDT, a) Naturwissenschaften 47, 134 [1960]; b) Chem. Ber. 94, 2174 [1961].

Auch die thermische Decarboxylierung (Abspaltung als Methylformiat, M-60) scheint durch die Hydroxygruppe an C-11 begünstigt zu werden, während Ringöffnung zu einem Keton analog zu VI und dessen weiterer Zerfall keine wesentliche Rolle spielt.



$\epsilon$ -Pyrromycinon (IX)<sup>10,11</sup> enthält eine aliphatische Hydroxygruppe mehr als  $\zeta$ -Pyrromycinon und kann durch zweifache Wasserabspaltung leicht III geben, das wie oben beschrieben weiter zerfällt: III-CH<sub>3</sub> (*m/e* 377), III-CH<sub>3</sub>O (*m/e* 361), III-CH<sub>3</sub>OH (*m/e* 360), III-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (*m/e* 333) und III-HCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (*m/e* 332). Die übrigen Bruchstücke scheinen von einem M-18-Fragment herzurühren, willkürlich als h formuliert, und ihre Entstehung ist aus dem folgenden Formelschema zu ersehen. In allen Fällen werden entweder stabile Benzyl-Kationen oder ionisierte aromatische Systeme gebildet.



Das Ion der Masse 294 entsteht wahrscheinlich durch Eliminierung von Kohlenmonoxid aus dem phenolischen Fragment k (*m/e* 322); ob aber das Kohlenmonoxid aus Ring A oder dem Anthrachinonsystem stammt, kann nicht entschieden werden.

Ein völlig analoges Verhalten zeigt Aklavinon (X)<sup>8,15</sup>. In Abbild. 6 sind alle Fragment-Ionen entsprechend in gleicher Weise bezeichnet, nur daß in diesem Fall die Aromatisierung zu II stärker hervortritt, und deshalb auch dessen weitere Fragmentierung (*m/e* 361, 344, 345) deutlich zu erkennen ist. Auch  $\delta$ -Rhodomycinon (XI)<sup>3</sup>,  $\epsilon$ -Rhodomycinon (XII)<sup>17</sup> und  $\epsilon$ -Iso-rhodomycinon (XIII)<sup>18</sup> haben in Ring A die gleiche Konstitution und Konfiguration wie  $\epsilon$ -Pyrromycinon (IX), jedoch besitzen sie alle an C-11 eine Hydroxygruppe, die in noch stärkerem Maße als bei  $\zeta$ -Rhodomycinon Anlaß zur Bildung von Anhydro- (M-50) und besonders Bisanhydro-lactonen (M-68) gibt. In der Tat hat das Fragment M-68 in allen drei Spektren<sup>6,7)</sup>

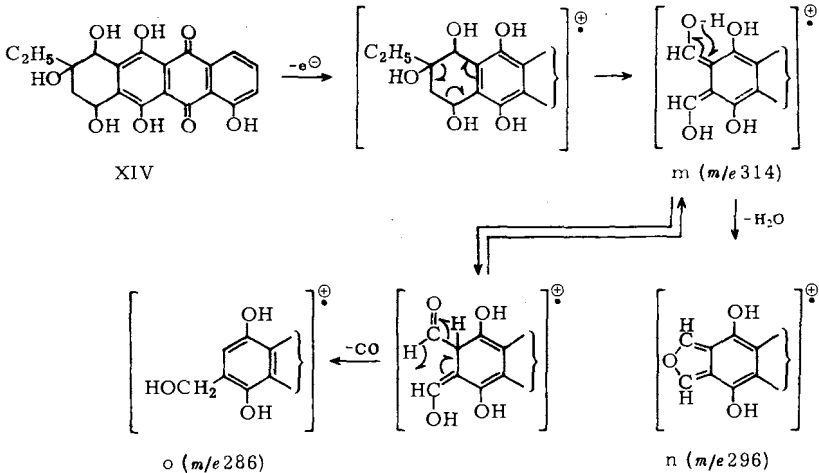


mycinon (XIV)<sup>3)</sup>,  $\beta$ -Rhodomycinon (XIV, epimer an C-7)<sup>20,21)</sup>,  $\beta_1$ -Rhodomycinon (XV)<sup>3)</sup>,  $\gamma$ -Rhodomycinon (XVI)<sup>20,21)</sup> und 10-Desoxy- $\gamma$ -rhodomycinon (XVII)<sup>3)</sup> nur durch eine Alkylgruppe an C-9 und eine bis drei Hydroxygruppen an C-7, C-9 und C-10 substituiert.

$\alpha$ - und  $\beta$ -Rhodomycinon unterscheiden sich nur in der Konfiguration der Hydroxygruppe an C-7<sup>3)</sup> und geben praktisch identische Massenspektren (Abbild. 7). (In diesem Falle ist zur Illustration auch der wenig charakteristische untere Massenbereich wiedergegeben.) Im oberen Massenbereich finden sich Fragmente, die durch Wasserabspaltungen ( $m/e$  368 und  $m/e$  350), Dehydrierung ( $m/e$  366) und Verlust eines Äthylradikals vom M-18-Bruchstück ( $m/e$  339) entstehen.

Das Ion der Masse 334 entspricht einem Desoxy-bisanhydro-Fragment. Daß während der Wasserabspaltungen die dritte Hydroxygruppe des Ringes A leicht reaktiv eliminiert werden kann, wurde bereits früher gefunden<sup>20,21)</sup>. Möglicherweise handelt es sich dabei im Massenspektrometer um eine intermolekulare Redoxreaktion, die schon vor dem Elektronenbeschuß stattfindet.

Der wichtigste Prozeß bei der Fragmentierung von  $\alpha$ -Rhodomycinon ist eine Retro-Diels-Alder-Reaktion, die zu m ( $m/e$  314) führt, das durch Verlust von Wasser zu



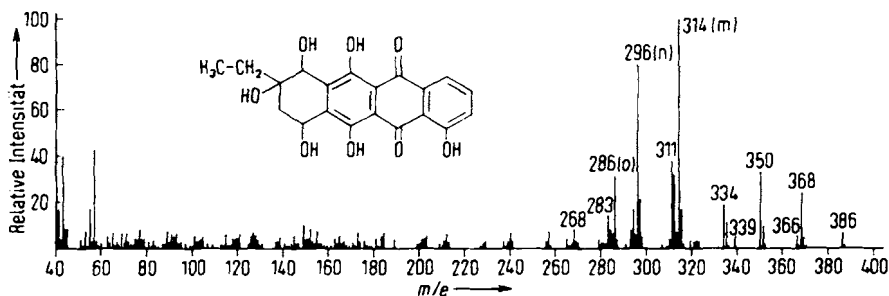
n ( $m/e$  296) (ein metastabiles Ion wird für diesen Übergang bei  $m/e$  279.5 beobachtet) oder durch Abspaltung von Kohlenmonoxid zu o ( $m/e$  286) weiterzerfallen kann. Formeln n und o sollten nur als mögliche aber nicht bewiesene Strukturen angesehen werden.

Die Reaktionsfolge M-H<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-CO kann für das Fragment  $m/e$  311 verantwortlich sein, denn es wird um 16 Masseneinheiten verschoben, wenn die C-7-Hydroxygruppe fehlt ( $\gamma$ - und  $\beta_1$ -Rhodomycinon), nicht aber durch die Art des Substituenten an C-9 beeinflusst ( $\beta_1$ -Rhodomycinon).

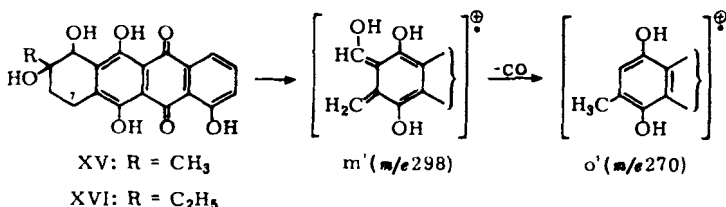
<sup>20)</sup> H. BROCKMANN und J. NIEMEYER, Naturwissenschaften **48**, 570 [1961].

<sup>21)</sup> H. BROCKMANN, P. BOLDT und J. NIEMEYER, Chem. Ber. **96**, 1356 [1963].

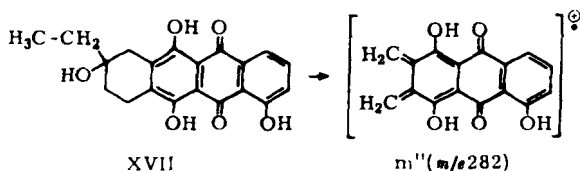


Abbild. 7. Massenspektrum von  $\alpha$ -Rhodomyconin (XIV)

Auch bei Abwesenheit der C-7-Hydroxygruppe im  $\gamma$ -Rhodomyconin (XVI) und  $\beta_1$ -Rhodomyconin (XV) bleibt das allgemeine Fragmentierungsmuster unverändert. Neben Dehydratisierungen ist wieder der Retro-Diels-Alder-Zerfall von Ring A die wichtigste Reaktion, die zu  $m'$  führt, das in diesem Falle kein Wasser mehr abspalten kann, sondern nur Kohlenmonoxid verliert und  $o'$  bildet (ein metastabiles Ion für diesen Übergang wurde im Spektrum von XV bei  $m/e$  245 beobachtet).



Fehlen beide Hydroxygruppen an C-7 und C-10, wie im 10-Desoxy- $\gamma$ -rhodomyconin (XVII), so führt die Retro-Diels-Alder-Reaktion zu einem Ion  $m''$  ( $m/e$  282), das anscheinend nicht mehr weiter zerfällt.



Am Beispiel von  $\zeta$ -Iso-rhodomyconin-tetraacetat (VIII, an C-1, C-4, C-6 und C-11 OAc statt OH) wurde das Fragmentierungsmuster von Anthracyclonacetaten untersucht. Die einleitenden Zerfallsschritte sind neben einer Wasserabspaltung die sukzessive Eliminierung von vier Molekülen Keten, bis bei  $m/e$  428 das Molekül-Ion des  $\zeta$ -Iso-rhodomyconins (VIII) und bei  $m/e$  410 dessen M-18-Fragment entsteht. Unterhalb von  $m/e$  428 sind die Spektren von VIII und seinem Tetraacetat fast gleich.

Die verschiedenen Strukturtypen der Anthracyclone geben, wie gezeigt, sehr charakteristische Massenspektren. Da die Isolierung dieser Farbstoffe häufig sehr schwierig ist und verschiedenartige, zeitraubende chromatographische Trennungen erfordert<sup>51</sup>, war man bei der chemischen Strukturaufklärung weitgehend auf Arbeiten im Mikromaßstab angewiesen. Nachdem nunmehr durch die Spektren von Anthra-

cyclinonen bekannter Struktur die wichtigsten Zerfallsmechanismen bekannt sind, ist es möglich, die Massenspektroskopie zur Konstitutionsaufklärung von Anthracyclinonen nutzbar zu machen, die nur zu wenigen Prozent in natürlich produzierten Anthracyclinongemischen vorkommen<sup>3)</sup> und daher chemischen Methoden zur Strukturermittlung nicht mehr zugänglich sind.

Die Arbeiten an der Stanford University wurden unterstützt durch NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, GRANTS GM-11309 und AM 04257.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Alle Substanzen wurden gereinigt, wie in der Originalliteratur beschrieben. Die Spektren von II, III, IV und X wurden mit einem CEC-Massenspektrometer Modell 21-103 C mit direktem Einlaßsystem<sup>22)</sup>, die von IX, XIV, XV und XVII mit einem Atlas CH-4 Massenspektrometer (direkter Einlaß, TO4-Ionenquelle) aufgenommen. Von VIII wurde ein normal auflösendes Spektrum, von IV ein Hochauflösungsspektrum mit einem AEI MS-9 Massenspektrometer gemessen.

---

<sup>22)</sup> J. F. LYNCH, J. M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ und C. DJERASSI, *Experientia* [Basel] **19**, 211 [1963].