

Hugo Obermann, Margot Spiteller-Friedmann und Gerhard Spiteller

Zur Lokalisierung funktioneller Gruppen in Steroiden mit Hilfe der Massenspektrometrie, I

## Ketosteroide

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 19. Dezember 1969)



Die Lokalisierung von Hydroxylgruppen am Steroidskelett gelingt in fast allen Fällen über eine Oxydation zu den entsprechenden Ketonen, da deren Massenspektren sehr charakteristisch sind. Sie erlauben meist auch Aussagen über die Verknüpfung des A/B-Ringsystems.

### Localisation of Functional Groups in Steroids with the Aid of Mass Spectrometry, I

#### Keto Steroids

The localisation of hydroxygroups on the steroid skeleton is possible indirectly by oxidation to the corresponding ketones in nearly all cases, because their mass spectra are very characteristic. They usually allow also the determination of the connection of the A/B ringsystem.



Bei der Strukturaufklärung eines unbekanntes Steroides handelt es sich fast ausschließlich um die Lokalisierung vorhandener funktioneller Gruppen (hauptsächlich von Keto- und Hydroxylgruppen sowie Doppelbindungen) am Steroidskelett und um die Klärung stereochemischer Fragen, insbesondere die A/B-Ringverknüpfung. Hierzu kann die Massenspektrometrie erhebliche Beiträge leisten, wie z. B. im Falle von  $\Delta^4$ -3-Ketosteroiden<sup>1,2)</sup>, die durch das Auftreten von Ionen der Masse 124 und  $M^+ - 42$  gekennzeichnet sind.

Eine unmittelbare Lokalisierung der vorhandenen Keto- und Hydroxylgruppen und der Doppelbindungen aus dem Massenspektrum ist jedoch oft schwierig oder sogar unmöglich, weil diese zu wenig Einfluß auf die Bruchstückbildung haben oder zur Bildung unspezifischer Abbauprodukte führen.

#### Herstellung von Derivaten zur Lokalisierung von funktionellen Gruppen

Strukturspezifischere Spektren kann man durch Derivatbildung erhalten, doch müssen insbesondere bei der Herstellung von Derivaten aus natürlich vorkommenden Steroiden folgende Punkte beachtet werden:

1. Natürliche Steroide liegen oft in so kleiner Menge vor, daß eine Isolierung und Identifizierung nur durch gaschromatographische Trennung mit nachfolgender Aufnahme eines

<sup>1)</sup> H. Audier, M. Fétizon und W. Vetter, Bull. Soc. chim. France 1964, 415.

<sup>2)</sup> R. H. Shapiro und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. 86, 2825 (1964).

Massenspektrums möglich ist. Die Derivate müssen, um eine zersetzungsfreie gaschromatographische Trennung zu gewährleisten, ausreichende Flüchtigkeit und Stabilität besitzen. Die Herstellung polarer Umsetzungsprodukte ist daher unzweckmäßig.

2. Die Reaktionen sollten möglichst quantitativ verlaufen.

3. Je höher die Molekulargewichte sind, um so länger dauert die Aufnahme des Spektrums und um so zeitraubender wird das Auszählen. Bei der Umsetzung sollte daher das Molekulargewicht nur eine geringfügige oder keine Änderung nach oben erfahren.

4. Die Derivate sollten möglichst strukturspezifische Spektren zeigen.

Meist sind diese Idealbedingungen nicht ganz zu verwirklichen, und es muß ein Kompromiß geschlossen werden: So geben beispielsweise Äthylacetale von Ketonen zwar oft sehr typische Spektren<sup>3,4)</sup>, die die Lage der ursprünglichen Carbonylgruppe erschließen lassen, doch wird dadurch ihre Flüchtigkeit herabgesetzt, und bei Vorhandensein mehrerer Keto-Gruppen erhält man Gemische.

### Zur Lokalisierung von Hydroxylgruppen durch Derivatbildung

Besonders schwer ist die Lokalisierung von Hydroxylgruppen, denn diese werden bei Elektronenbeschuß im Massenspektrometer fast immer in Form von Wasser eliminiert, und aus Folgespaltprodukten sind kaum Hinweise über ihre ursprüngliche Stellung erhältlich.

Als Derivate wurden bisher hauptsächlich Trimethylsilyläther hergestellt<sup>5-7)</sup> und massenspektrometrisch untersucht, weil sich diese sehr gut für eine gaschromatographische Trennung eignen, doch lassen sich aus den Spektren oft nur wenig Informationen erhalten: Ähnlich wie aus den freien Hydroxysteroiden Wasser abgespalten wird, wird aus den entsprechenden Trimethylsilyläthern vorzugsweise Trimethylsilanol eliminiert. Schlüsselbruchstücke, aus denen Hinweise über die Stellung der funktionellen Gruppe gewonnen werden können, sind oft mehrdeutig. Dazu kommt, daß der Trimethylsilylrest relativ schwer ist (Erhöhung des Molekulargewichtes um 72 ME pro Hydroxylgruppe) und damit bei Verbindungen mit mehreren Hydroxylgruppen ein unerwünschtes starkes Anwachsen des Molekulargewichtes in Kauf genommen werden muß. Außerdem sind zur Darstellung der Trimethylsilyläther häufig derbe Reaktionsbedingungen nötig, so daß mitunter die Gefahr einer Trimethylsilylierung von Ketogruppen nicht ausgeschlossen werden kann<sup>8)</sup>.

Da die Herstellung von Ätherderivaten aus Hydroxysteroiden nicht befriedigend ist (Pyranyläther zeigen beispielsweise in ihren Spektren fast nur für den Pyranylrest typische Bruchstücke, aus Methyl- und Äthyläthern wird die Alkoholkomponente eliminiert) und auch eine Veresterung (mit Essigsäure, Trifluoressigsäure oder Benzoesäure) wegen der leichten Eliminierbarkeit des Säurerestes keinerlei Vorteil bietet, haben wir nach Derivaten gesucht, die sowohl eine gaschromatographische Trennung als auch eine gute massenspektrometrische Charakterisierung erlauben. Eingehende Untersuchungen ergaben, daß zwar Carbonylgruppen häufig bezüglich ihres Einflusses auf die Bruchstückbildung nicht mit anderen Gruppen (z. B. Hydroxylgruppen) konkurrieren können, aber sofort sehr strukturspezifische Spektren erhalten werden, wenn *nur* noch Carbonylgruppen am Steroidskelett vorhanden sind. Spektren von Di-, Tri- und Polyketosteroiden sind daher ausgezeichnet zur Lokalisierung ursprünglich vorhandener Hydroxylgruppen geeignet.

<sup>3)</sup> H. Audier, J. Bottin, A. Diara, M. Fétizon, P. Foy, M. Golfier und W. Vetter, Bull. Soc. chim. France **1964**, 2292.

<sup>4)</sup> Z. Pelah, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 3722 (1964).

<sup>5)</sup> P. Eneroth, K. Hellström und R. Ryhage, J. Lipid Res. **5**, 245 (1964); Steroids **6**, 707 (1965).

<sup>6)</sup> P. Eneroth, B. Gordon, R. Ryhage und J. Sjövall, J. Lipid Res. **7**, 511 (1966).

<sup>7)</sup> J. Sjövall und R. Vihko, Steroids **7**, 447 (1966) und Folgearbeiten.

<sup>8)</sup> W. Vetter, W. Walther, M. Vecchi und M. Cereghetti, Helv. chim. Acta **52**, 1 (1969).

Bei der Oxydation entsteht aus einem  $\alpha$ - und einem  $\beta$ -Hydroxysteroid dasselbe Keton. Durch diese Einschränkung der Isomeriemöglichkeiten reichen wenige Standardspektren zur Lokalisation der ursprünglichen Hydroxylgruppen aus. Allerdings bedarf es zur Ermittlung der sterischen Anordnung der Hydroxylgruppen weiterer Untersuchungen.

### Hinweise über die Ringverknüpfung des A/B-Systems

Ein Einfluß der Ringverknüpfung des A/B-Systems auf die Bruchstückbildung ist immer nur dann zu erwarten, wenn Hauptspaltreaktionen in Nachbarschaft des Kohlenstoffatoms 5 einsetzen. Dies gilt daher besonders für 4- und 6-Ketosteroide, ist aber auch noch bei Steroiden, die eine Carbonylgruppe an anderen Stellen der Ringe A, B oder C tragen, erheblich. Da in allen natürlich vorkommenden Steroiden ein Sauerstoffsubstituent in Stellung 3 vorhanden ist und eine Ketogruppe in Stellung 3 fast immer für wichtige Spaltreaktionen verantwortlich ist, läßt sich meist die Stereochemie am C-Atom 5 aus den Spektren von Di- und Triketosteroiden ableiten.

Keine Aussagen über die Art der Ringverknüpfung sind jedoch möglich, wenn nur das D-Ringsystem Ketogruppen enthält. Dann setzen die Hauptspaltreaktionen im D-Ringsystem ein und der Unterschied in der Verknüpfung des A/B-Ringsystems kann sich nicht auswirken.

In Übereinstimmung mit dieser Feststellung und im Gegensatz zu einem Befund von *Djerassi* konnten wir keine eindeutigen Unterschiede in den Spektren des  $5\alpha$ - und des  $5\beta$ -Androstanons-(17)<sup>9)</sup> feststellen. Die erheblichen Unterschiede in der Spaltstückintensität der Isomeren, die *Djerassi* beobachtete, sind wahrscheinlich auf unterschiedliche Aufnahmebedingungen zurückzuführen.

### Herstellung der Derivate

Im allgemeinen ergibt sich zur Lokalisierung der Hydroxylgruppen folgender Weg:

1. Hydrierung von Doppelbindungen, da diese bei der Oxydation zu unerwünschten Nebenreaktionen Anlaß geben können (Vorsicht bei Vorhandensein einer  $\Delta^4$ - oder  $\Delta^5$ -Doppelbindung – Isomerenbildung).

2. Da im Endprodukt nicht zwischen ursprünglich vorhandenen Carbonylgruppen und solchen, die durch Oxydation aus Hydroxylgruppen entstanden sind, unterschieden werden kann, ist in manchen Fällen die Entfernung der ursprünglich vorhandenen Carbonylgruppen durch Thioacetalbildung und nachfolgende Entschwefelung mit Raney-Nickel angebracht. Weil hierbei aber häufig Nebenprodukte entstehen, wird man meist auf eine Entfernung der Carbonylgruppen verzichten und eher zur Lokalisierung der ursprünglich vorhandenen Carbonylgruppen Vergleichsspektren heranziehen.

3. Oxydation der vorhandenen Hydroxylgruppen zu den entsprechenden Ketonen mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig<sup>10)</sup>. Schwierigkeiten ergeben sich nach unseren Erfahrungen lediglich bei Gegenwart von Hydroxylgruppen an benachbarten Kohlenstoffatomen durch weitergehende Oxydation.

Ist auf diese Weise die Lokalisierung der Sauerstoff-Funktionen am Steroidskelett gelungen, so ist die Zahl der möglichen Strukturen für die Ausgangsverbindung soweit eingeschränkt, daß man sich Vergleichsproben beschaffen oder herstellen kann, um eine eindeutige massenspektrometrische Identifizierung zu erreichen.

<sup>9)</sup> L. Tökés, R. T. La Londe und C. Djerassi, *J. org. Chemistry* **32**, 1012 (1967).

<sup>10)</sup> I. E. Bush, *The Chromatography of Steroids*, S. 363, Pergamon Press, Oxford 1961.

## Diketosteroide

Massenspektrometrische Abbaureaktionen von Monoketosteroiden wurden eingehend von *Djerassi* studiert<sup>11)</sup>. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse lassen sich im allgemeinen nur dann unmittelbar auf den Zerfall von Diketosteroiden anwenden, wenn die beiden Carbonylgruppen relativ weit voneinander entfernt sind (etwa bei Anwesenheit je einer Carbonylgruppe in Ring A und D). Sind dagegen die beiden Carbonylgruppen in benachbarten Ringen lokalisiert, so treten oft bei den entsprechenden Monoketosteroiden nicht zu beobachtende Abbaureaktionen ein, weil offensichtlich dann die zweite Carbonylgruppe entscheidenden Einfluß auf die Bruchstückbildung hat.

Massenspektren von Diketosteroiden sind nur vereinzelt veröffentlicht worden: So zeigte *Aplin*, daß sich die Spektren von  $5\alpha$ - und  $5\beta$ -1,6-Diketosteroiden ganz außerordentlich voneinander unterscheiden<sup>12)</sup>. *Fitches* publizierte das Spektrum eines Androstandions-(3.17)<sup>13)</sup>, bei dem es sich nach unseren Untersuchungen um das  $5\alpha$ -Isomere handeln sollte.

$5\alpha$ - und  $5\beta$ -Androstandion-(3.17) unterscheiden sich nämlich sehr bezüglich ihrer Neigung zur Bruchstückbildung (Abbild. 1 und 2): Gemeinsam ist beiden Verbindungen die Bildung der für 17-Ketosteroide typischen Spaltprodukte<sup>11)</sup>:

A:  $M^+ - 44$ , Verlust von C-16 und C-17 als  $H_2C=CHOH$

B:  $M^+ - 56$ , Verlust von C-15 bis C-17 als  $H_2C=CH-CHO$

C:  $M^+ - 57$ , Verlust von C-15 bis C-17 als  $\cdot CH_2-CH_2-CHO$

D:  $M^+ - 59$ , Verlust von C-15 bis C-17 als  $\cdot CH_2-CH_2-CH_2OH$

Sie unterscheiden sich jedoch wesentlich in den Ionen, die ihre Entstehung im Ring A beginnenden Abbaureaktionen verdanken oder als Folgespaltprodukte der Ionen A, B, C und D betrachtet werden müssen:

Im Spektrum des  $5\alpha$ -Isomeren ist ein Schlüsselbruchstück E der Masse 124 ( $C_8H_{12}O$ ) vorhanden. Es enthält die C-Atome des Ringes A, C-19 und C-6. Im Spektrum des  $5\beta$ -Isomeren zeigt dieses Ion nur geringe Intensität.

Im Falle des  $5\alpha$ -Isomeren werden die Ionen B unter Eliminierung eines Methylradikals zu einem Fragment F [ $M^+ - (56 + 15)$ ] der Masse 217 weiter abgebaut. Ein kleiner Anteil von Ionen dieser Bruttoformel G ( $M^+ - 71$ ) entsteht allerdings auch durch Verlust der C-Atome 1 bis 4 unter Eliminierung eines  $C_4H_7O$ -Radikals.

Beim  $\beta$ -Isomeren unterliegt das Ion F einer weiteren Abbaureaktion: Unter Verlust von  $H_2O$  entsteht das Ion H der Masse 199. Dieser Abbauschritt fällt beim  $5\alpha$ -Isomeren kaum ins Gewicht.

Daneben zerfällt das Spaltstück B des  $5\beta$ -Isomeren unter Abspaltung eines  $C_4H_6O$ -Teilchens, das die C-Atome 1 bis 4 umfaßt, zum Ion I der Masse 162. Auch diese Abbaureaktion ist beim  $5\alpha$ -Isomeren nicht möglich.

Im  $5\beta$ -Isomeren kann das Fragment A ebenfalls unter Verlust des Teilchens  $C_4H_6O$  zum Ion J ( $244 - 70$ ) der Masse 174 zerfallen. Überdies ist der Verlust dieses Teil-

<sup>11)</sup> Übersicht siehe: *M. Spitteller-Friedmann* und *G. Spitteller*, Fortschr. chem. Forsch. **12**, 450 (1969).

<sup>12)</sup> *R. T. Aplin* und *P. C. Cherry*, Chem. Commun. **1966**, 628.

<sup>13)</sup> *H. J. M. Fitches* in „Advances in Mass Spectrometry“, Bd. 2, S. 428, Editor *R. M. Elliot*, Pergamon Press, Oxford 1963.

chens auch direkt aus dem Molekül-Ion möglich, wodurch das Fragment K ( $M^+ - 70$ )<sup>14)</sup> der Masse 218 resultiert.

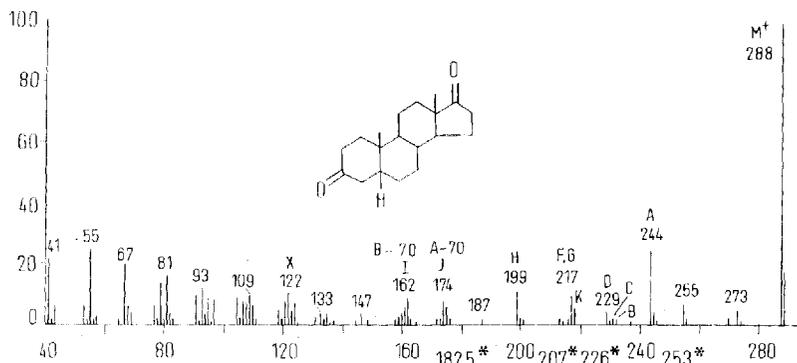


Abb. 1

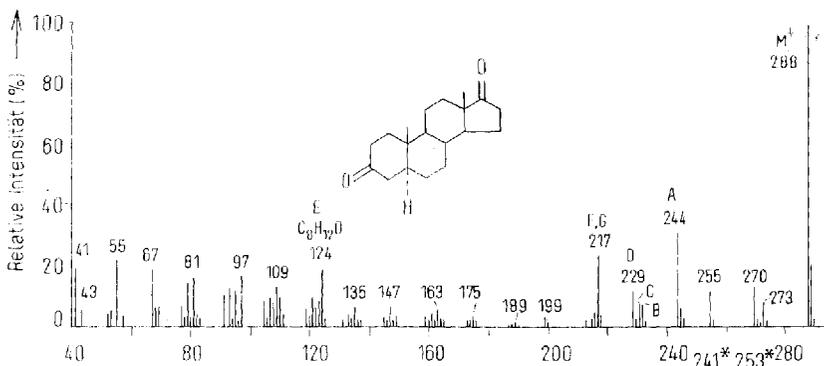


Abb. 2

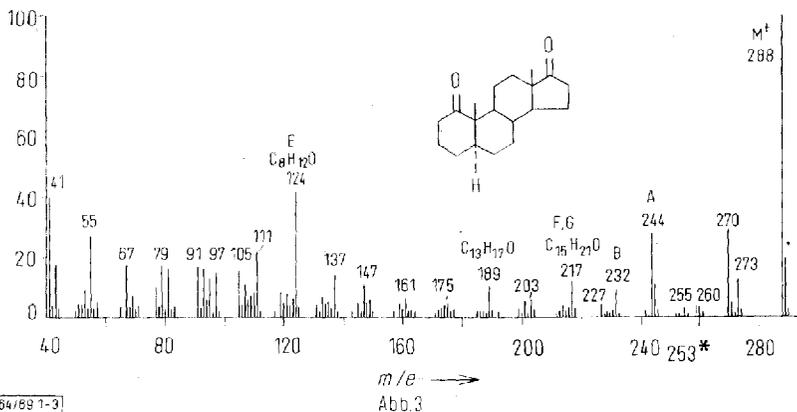
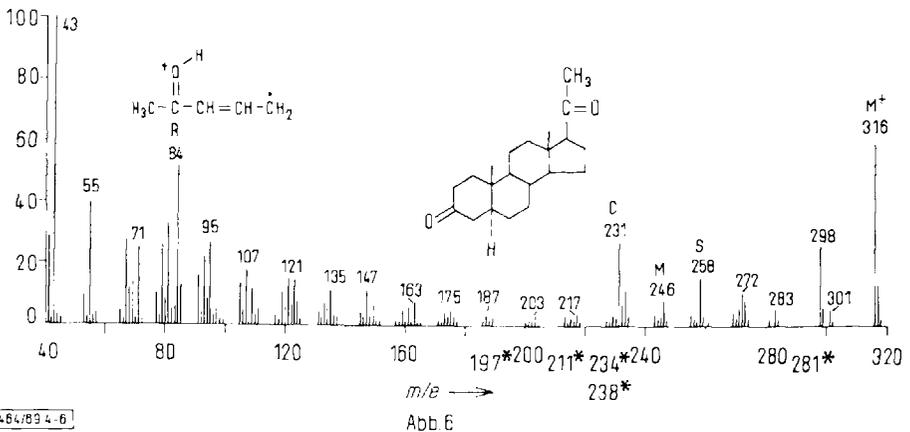
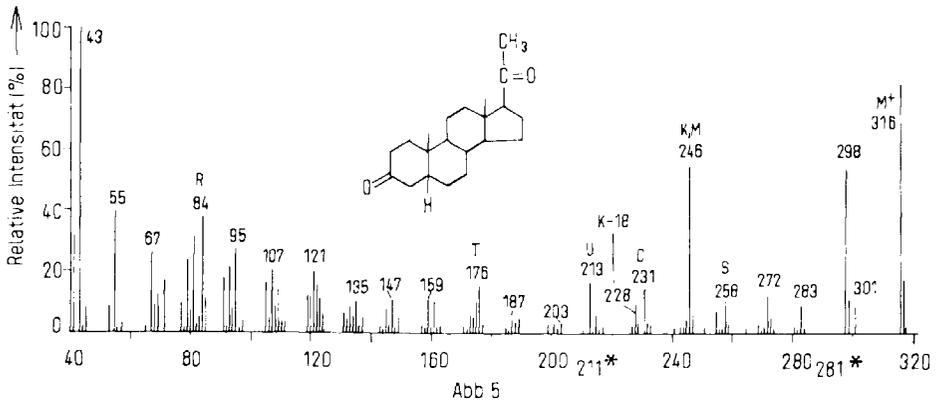
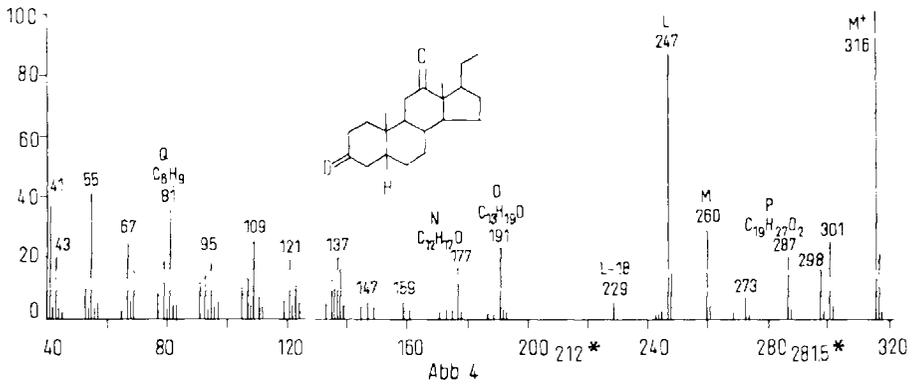


Abb. 3

Abbild. 1–3. Massenspektren des 5β-Androstandions-(3.17) (oben), 5α-Androstandions-(3.17) (Mitte) und 5α-Androstandions-(1.17) (unten)

<sup>14)</sup> H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **84**, 1430 (1962).

Während 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Androstandion-(3.17) durch ihre Spektren sehr leicht unterschieden werden können, ist bemerkenswerterweise die Unterscheidung des 5 $\alpha$ -



Abbild. 4 6. Massenspektren des 5 $\beta$ -Pregnandions-(3.12) (oben), 5 $\beta$ -Pregnandions-(3.20) (Mitte) und 5 $\alpha$ -Pregnandions-(3.20) (unten)

Androstandions-(3.17) von dem isomeren 5 $\alpha$ -Androstandion-(1.17) schwieriger, da diese Verbindung zur Bildung von Spaltstücken gleicher Masse, die aus gleichen Molekülteilen entstehen, befähigt ist (Abbild. 3). Eine Unterscheidung zwischen diesen Isomeren gelingt erst bei Berücksichtigung von Ionen geringer Intensität ( $m/e$  111, 137 und 203) und der unterschiedlichen Intensitätswerte, vorzugsweise der Ionen der Masse 124 (E) (C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O) und 189 (C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O).

Ist in der Stellung 12 eine Carbonylgruppe und gleichzeitig in 17 eine Seitenkette vorhanden, die am C-20 über ein Wasserstoffatom verfügt, so werden Abbaureaktionen im Ring D außerordentlich begünstigt<sup>15)</sup>. 5 $\beta$ -Pregnandion-(3.12) z. B. wird vorzugsweise zum Ion L der Masse 247 unter Verlust von C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>• (C-15 bis C-17 sowie C-20 und C-21) abgebaut (Abbild. 4). Daneben entsteht ein Fragment M (M<sup>+</sup> - 56) durch Verlust der C-Atome 16 und 17 und der daran haftenden Seitenkette. Die Anwesenheit der 5 $\beta$ -3-Ketogruppierung zeigt sich daran, daß aus dem Ion L der Masse 247 wieder ein Teilchen der Masse 70 zu N (Masse 177) eliminiert werden kann. Das Ion O der Masse 191 entsteht durch Verlust des Ringes A sowie der C-Atome 6 und 19.

Das Vorhandensein der Äthylseitenkette läßt sich am M<sup>+</sup> - 29-Ion P (M<sup>+</sup> - C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>•) der Masse 287 erkennen. Durch weiteren Zerfall kann daraus das die C-Atome des D-Ringes (C-13 bis C-17 und C-18) umfassende Fragment Q der Masse 81 (C<sub>6</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>) gebildet werden.

Charakteristisch unterscheiden sich auch das 5 $\alpha$ - und das 5 $\beta$ -Pregnandion-(3.20) (Abbild. 5 und 6). Die Carbonylgruppe in der Stellung 20 läßt sich in beiden Isomeren an der hohen Intensität des Acetyl-Ions der Masse 43, einem die C-Atome 15 - 17 und C-20 und C-21 umfassenden Bruchstück R der Masse 84<sup>11,16)</sup>, einem M<sup>+</sup> - 58-Ion S (Verlust von C-17, C-20 und C-21) sowie einem M<sup>+</sup> - 85-Fragment C erkennen.

Im Spektrum des 5 $\beta$ -Isomeren tritt zusätzlich das für 5 $\beta$ -3-Ketoandrosterivate typische Ion K bei M<sup>+</sup> - 70 auf<sup>14)</sup>. Ein kleiner Teil der M<sup>+</sup> - 70-Ionen wird allerdings auch durch Verlust von C-16 und C-17, C-20 und C-21 gebildet und entspricht M, wie ein Ion der Masse 246 sehr viel geringerer Intensität im Spektrum des 5 $\alpha$ -Isomeren andeutet (Abbild. 6). Da M noch das unversehrte A/B-Ringsystem enthält, kann es im Falle des  $\beta$ -Isomeren unter Verlust von C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O (70 ME) zum Ion T der Masse 176 bzw. unter •CH<sub>3</sub>- und Wasserabspaltung zum Fragment U der Masse 213 weiter zerfallen.

## Triketosteroide

*Fitches*<sup>13)</sup> zeigte erstmals die breite Anwendbarkeit der Massenspektrometrie bei der Untersuchung von Steroiden, sein Spektrum eines Androstantrions-(3.11.17) müßte nach unseren eigenen Ergebnissen das des 5 $\alpha$ -Isomeren sein. *Sjövall* erwähnt, daß sich das Spektrum der gleichen Verbindung zur Klärung der Stereochemie am C-5 des aus Rattenkot isolierten 3 $\alpha$ .11 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstanons-(17) sehr nützlich erwies<sup>17)</sup>, ohne jedoch das Spektrum darzustellen. *Aplin*<sup>12)</sup> stellte große Unterschiede in den Spektren des 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Androstantrions-(1.6.17) fest. Weitere Literaturangaben über Spektren von Triketosteroiden haben wir nicht gefunden.

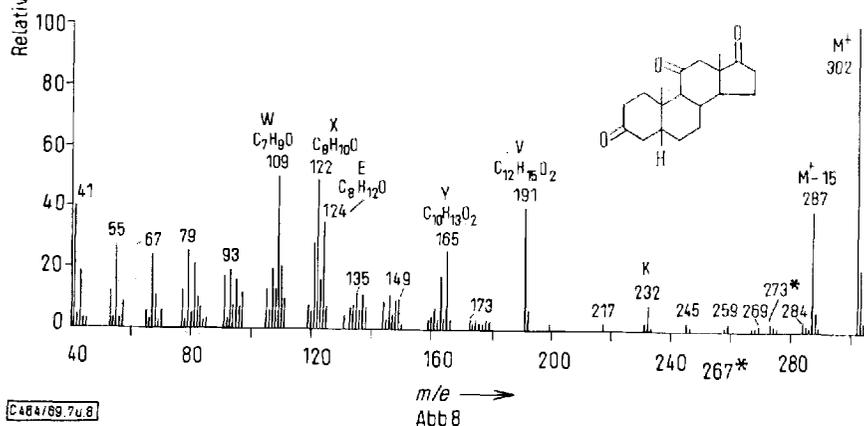
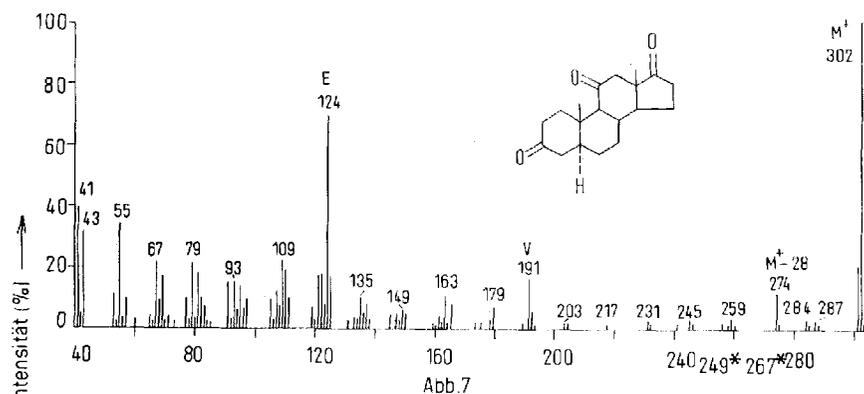
<sup>15)</sup> C. Djerassi und L. Tökés, J. Amer. chem. Soc. **88**, 536 (1966).

<sup>16)</sup> L. Tökés, R. T. La Londe und C. Djerassi, J. org. Chemistry **32**, 1020 (1967).

<sup>17)</sup> H. Eriksson, J. Å. Gustafsson und J. Sjövall, Europ. J. Biochem. **6**, 219 (1968).

Die Einführung einer Carbonylgruppe in Stellung 11 eines 3,17-Dikosteroids (vgl. Abbild. 1 und 2) hat sehr starken Einfluß auf die Bruchstückbildung: Die für den Ring A charakteristischen Spaltreaktionen werden gefördert, und es treten neue, für das Vorhandensein der 11-Ketogruppe typische Spaltreaktionen auf. Dementsprechend werden die für 17-Ketosteroide charakteristischen Spaltreaktionen nahezu völlig unterdrückt.

So ist im Spektrum des 5 $\alpha$ -Androstantrions-(3.11.17) (Abbild. 7) das Ion der Masse 124 (E) von überragender Intensität.



Abbild. 7 und 8. Massenspektren des 5 $\alpha$ -Androstantrions-(3.11.17) (oben) und 5 $\beta$ -Androstantrions-(3.11.17) (unten)

Die 11-Ketogruppe ist für das Auftreten des Ions V der Masse 191, das die C-Atome der Ringe C und D sowie C-6 und C-7 umfaßt, verantwortlich. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß ein analoges Fragment der Masse 177 im Spektrum des 5 $\alpha$ -Androstanons-(11)<sup>18,19)</sup> zwar vorhanden, aber nur von geringer Intensität ist, während ein Ion der Masse 164 dominiert, dessen Analogon der Masse 178 im

<sup>18)</sup> D. H. Williams und C. Djerassi, Steroids 3, 259 (1964).

<sup>19)</sup> D. H. Williams, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. 85, 2091 (1963).

Spektrum des  $5\alpha$ -Androstantrions-(3.11.17) praktisch fehlt. Dies zeigt deutlich, daß es oft nicht möglich ist, vom Verhalten monosubstituierter Verbindungen auf das höhersubstituierter zu schließen.

Im Vergleich zum Spektrum des  $5\alpha$ -Androstantrions-(3.11.17) (Abbild. 7) hat das Ion E der Masse 124 im Spektrum des  $5\beta$ -Isomeren sehr viel geringere Intensität. Haupt-Ionen, die Teile des A/B-Ringsystems enthalten, sind die Fragmente W und X der Massen 109 und 122 (Abbild. 8). Hinweise für das Vorliegen eines  $5\beta$ -3-Ketosteroides sind auch aus dem Auftreten eines  $M^+ - 70$ -Ions K ableitbar. Bemerkenswert ist ferner die im Vergleich zum  $\alpha$ -Isomeren höhere Neigung zur Bildung des Ions Y der Masse 165, das die C-Atome der Ringe C und D umfaßt.

Besonders starke Unterschiede sind in den Spektren der am C-5 isomeren Androstantrione-(3.6.17) festzustellen: Im Spektrum des  $5\alpha$ -Isomeren (Abbild. 9) dominiert ein Ion Z bei  $M^+ - 29$ , das dem Verlust von  $C_2H_5\cdot$  (wahrscheinlich C-1 und C-2 umfassend) entspricht. Der Ersatz der Wasserstoffe an C-6 durch eine Ketogruppe macht die Bildung der Ionen E unmöglich.

Im Spektrum des  $5\beta$ -Isomeren dagegen (Abbild. 10) ist das  $M^+ - 29$ -Ion Z nur von ganz untergeordneter Intensität. Charakteristisch ist ein  $M^+ - 96$ -Ion AA (entsprechend dem Verlust von  $C_5H_4O_2$ ). Das Bruchstück der Masse 123 (BB) ist offenbar nur für dieses Steroid typisch, da es in den Spektren analoger Verbindungen fehlt.

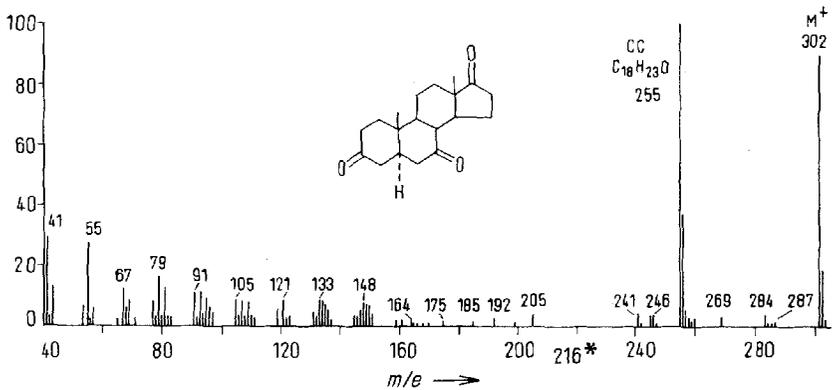
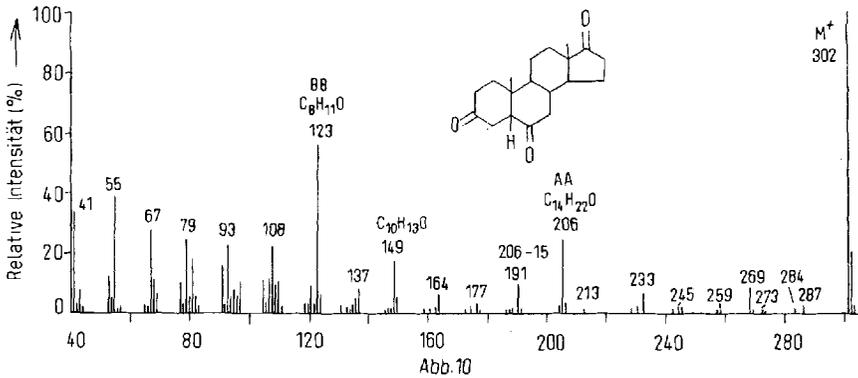
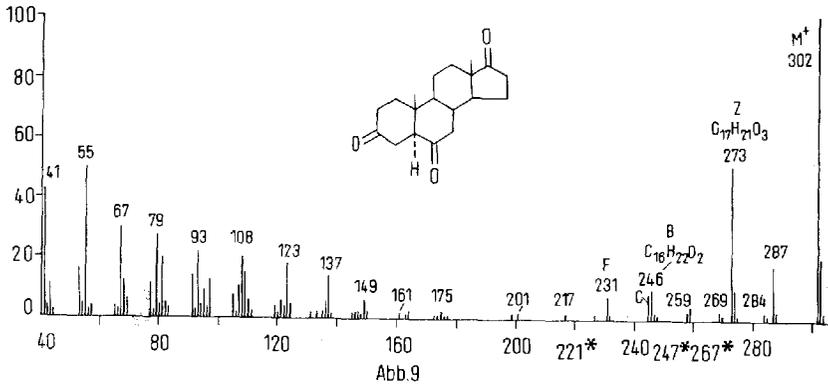
Das Spektrum des  $5\alpha$ -Androstantrions-(3.7.17) (Abbild. 11) ist von einem einzigen überragenden Schlüsselbruchstück CC bei  $M^+ - 47$  (Verlust von  $H_2O$  und  $CHO\cdot$ ) gekennzeichnet. Derartige Fragmente sind für das Vorliegen einer 7.17-Diketogruppe typisch. Die Ketogruppe in Stellung 3 hat offensichtlich keinerlei Einfluß auf das Spaltgeschehen.

Die starke Einwirkung der 7-Ketogruppe auf die Bruchstückbildung kommt auch im Spektrum des  $5\alpha$ -Pregnantrions-(3.7.20) zum Ausdruck (Abbild. 12): Hauption ist neben dem Fragment der Masse 43, das die 17-ständige  $CH_3CO$ -Gruppe anzeigt, ein Bruchstück DD der Masse 192: Es enthält die Ringe A und B sowie C-11<sup>14</sup>). Die Ketogruppe und der Bau des Ringes D sind daneben noch an den Ionen R der Masse 84 sowie den Fragmenten  $M^+ - 85$  (C) und  $M^+ - 70$  (M) erkennbar. Dagegen ist durch die 7-ständige Ketogruppe wie bei 6-Ketoverbindungen die für  $5\alpha$ -3-Ketosteroide oft typische Bildung des Ions E der Masse 124 unterdrückt.

Die Spektren der beiden am C-5 isomeren Pregnantrione-(3.11.20) sind zwar so verschieden, daß zwischen ihnen unterschieden werden kann (Abbild. 13 und 14), jedoch ist die Ableitung der vorhandenen Strukturelemente aus den Spektren nicht ohne weiteres möglich: Erkennbar ist lediglich bei beiden Isomeren das Vorhandensein der 20-Ketogruppe am Auftreten des Ions der Masse 43. Dagegen unterbindet die 11-Ketogruppe so wie eine 12-Ketogruppe (siehe später) die Bildung des Ions R der Masse 84, die sonst für 20-Ketosteroide mit unsubstituiertem Ring D charakteristisch ist. Auch die für den D-Ring bekannten Abbaureaktionen (z. B. C) treten nur mit geringer Wahrscheinlichkeit ein.

Ionen bei  $M^+ - 70$ , die M entsprechen, im Spektrum des  $5\alpha$ -Isomeren (Abbild. 13) könnten zu der irrtümlichen Vermutung führen, daß eine  $5\beta$ -3-Ketogruppierung vorliegt, allerdings ist auch ein Ion G bei  $M^+ - 71$  vorhanden, das auf die  $5\alpha$ -Struktur

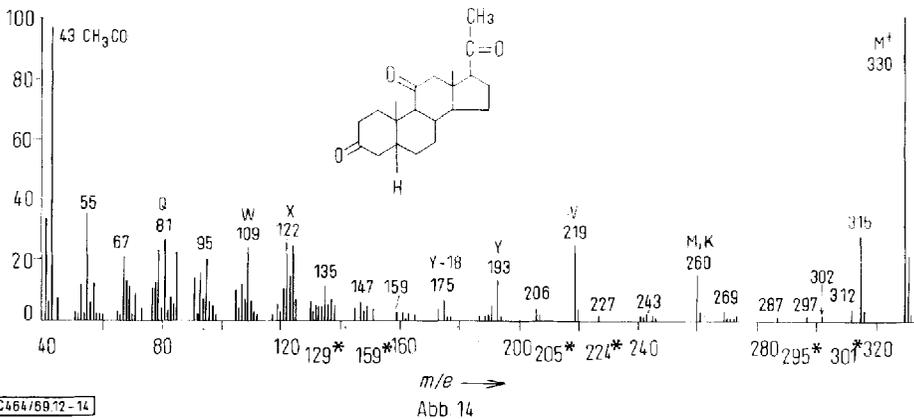
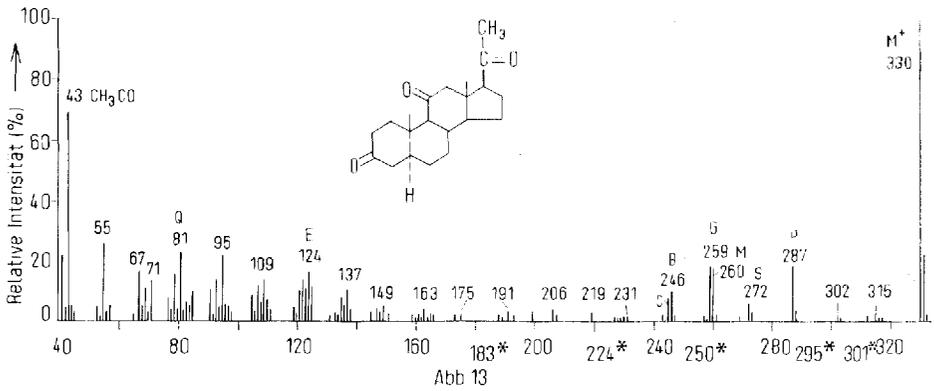
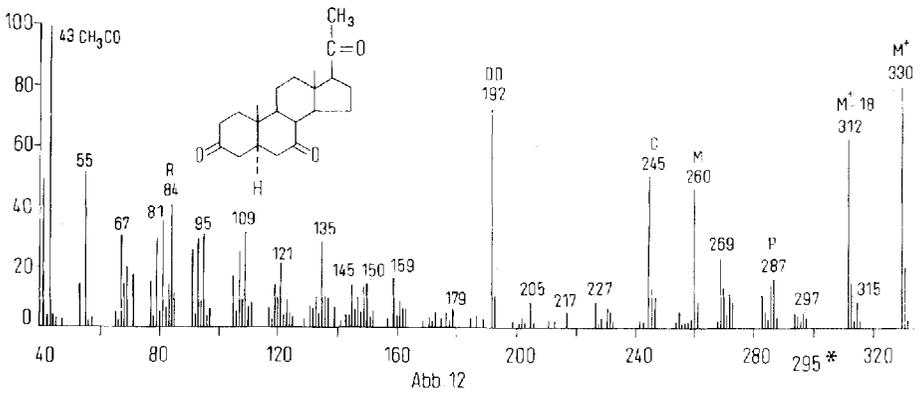
hinweist. Das Ion E der Masse 124 ist nur von relativ geringer Intensität. Insbesondere fehlen intensivere Schlüsselbruchstücke, die auf das Vorhandensein der 11-Ketogruppe hindeuten würden (z. B. V).



C46/69.9-11

Abbild. 9–11. Massenspektren des 5 $\alpha$ -Androstantrions-(3.6.17) (oben), 5 $\beta$ -Androstantrions-(3.6.17) (Mitte) und 5 $\alpha$ -Androstantrions-(3.7.17) (unten)

Charakteristisch in dieser Beziehung ist das Spektrum des 5 $\beta$ -Isomeren: Die 11-Ketogruppe ist an den Schlüsselbruchstücken der Masse 219 (V) und 193 (Y) klar

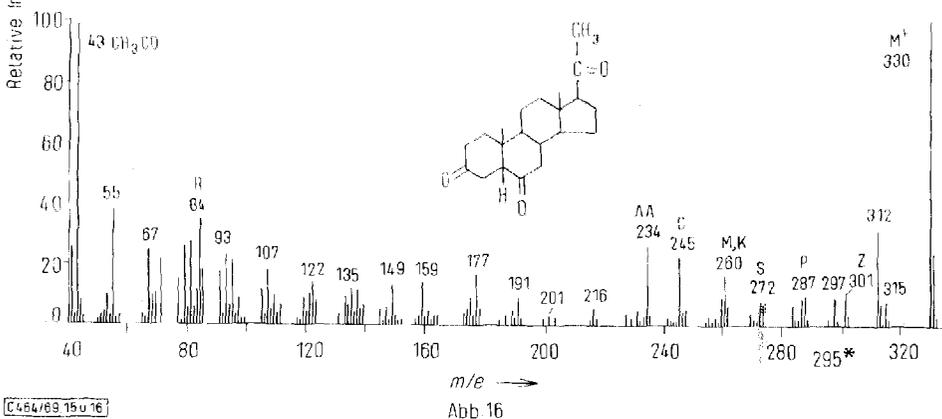
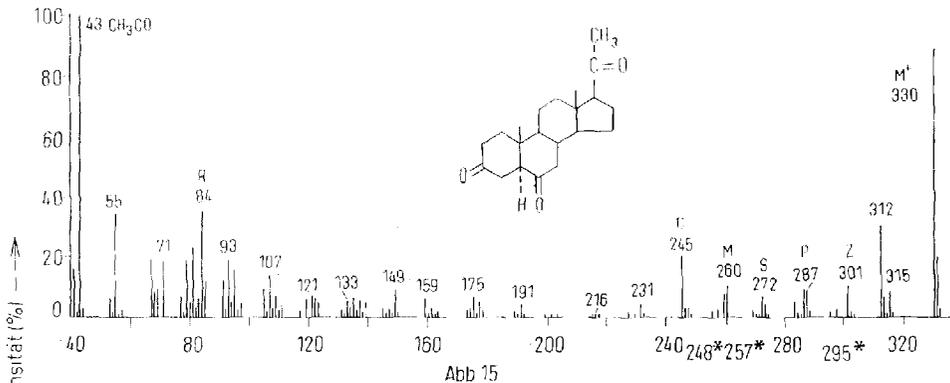


C464/69-12-14

Abbild. 12--14. Massenspektren des 5 $\alpha$ -Pregnantrions-(3.7.20) (oben), 5 $\alpha$ -Pregnantrions-(3.11.20) (Mitte) und 5 $\beta$ -Pregnantrions-(3.11.20) (unten)

erkennbar. Auch die für eine  $5\beta$ -3-Ketogruppierung oft typischen Ionen der Masse 109 (W) und 122 (X) sind zugegen, ebenso wie ein intensives Fragment bei  $M^+ - 70$  (M und K entsprechend).

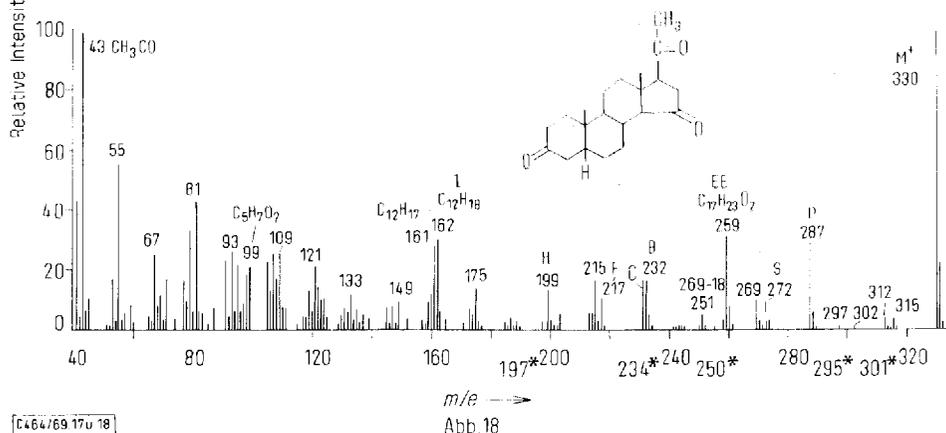
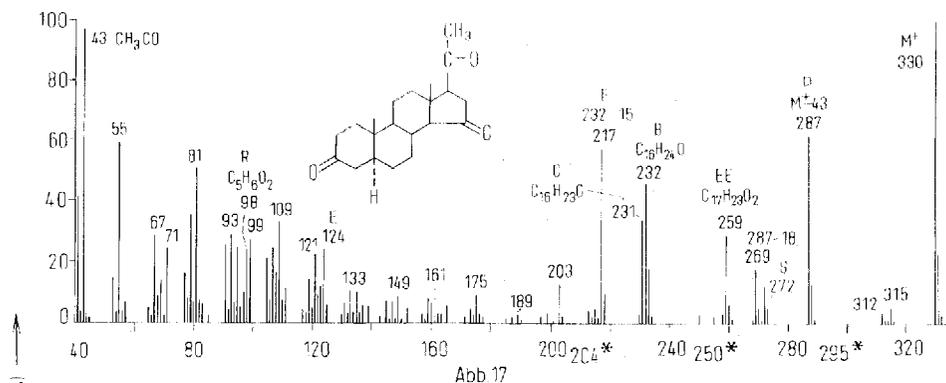
Weniger deutlich als die am C-5 isomeren Androstantrione-(3.6.17) (Abbild. 9 und 10) unterscheiden sich die entsprechenden Pregnantrione-(3.6.20) (Abbild. 15 und 16): Wohl treten die charakteristischen Ionen bei  $M^+ - 29$  (Z) bzw.  $M^+ - 96$  (AA) in den Spektren auf, werden jedoch relativ stark von den Schlüsselbruchstücken an Intensität übertroffen, die für Abbaureaktionen im D-Ring typisch sind: R (Masse 84), C (Masse 245) und M (Masse 260).



Abbild. 15 und 16. Massenspektren des  $5\alpha$ -Pregnantrions-(3.6.20) (oben) und  $5\beta$ -Pregnantrions-(3.6.20) (unten)

Auch aus den Spektren der beiden an C-5 isomeren Pregnantrione-(3.15.20) (Abbild. 17 und 18) läßt sich eindeutig die Stellung der funktionellen Gruppen und die Art der Verknüpfung des A/B-Ringsystems ableiten: In beiden Verbindungen werden die Hauptabbaureaktionen durch Spaltungen von Bindungen im Ring D eingeleitet. Auf diese Weise werden vor allem die Ionen B und C gebildet. Das Vorhandensein der Carbonylgruppe in Stellung 15 hat eine erhöhte Neigung zur Eliminierung des Substituenten an C-17 zur Folge, so daß ein intensives Ion P bei  $M^+ - 43$

(Verlust von  $\text{CH}_3\text{CO}\cdot$ ) auftritt. Die Acetylgruppe ist ferner durch ein intensives Ion der Masse 43 nachweisbar. Die Anwesenheit der Carbonylgruppe in der Stellung 15 begünstigt die Spaltung der C-15–C-16-Bindung. Nach einer Wasserstoffumlagerung (wahrscheinlich von C-14) wird sodann der die C-Atome 16,17,20 und 21 enthaltende Rest eliminiert, so daß das Ion EE entsteht.



Abbild. 17 und 18. Massenspektren des 5 $\alpha$ -Pregnantrions-(3.15.20) (oben) und 5 $\beta$ -Pregnantrions-(3.15.20) (unten)

Durch die Anwesenheit der Ketogruppe in der Stellung 15 ist das Ion R zur Masse 98 verschoben. Es wird von einem um eine ME schwereren Fragment, das durch eine zusätzliche Wasserstoffwanderung gebildet wird, begleitet.

Das Vorhandensein der 3-Ketogruppe und die sterische Anordnung am C-5 läßt sich durch sekundäre Spaltreaktionen erschließen: Im Spektrum des 5 $\beta$ -Isomeren treten die dafür charakteristischen Ionen der Masse 162 (I) und 199 (H) auf. Im Spektrum des 5 $\alpha$ -Isomeren ist ein zwar intensitätsschwaches, aber immerhin charakteristisches Ion der Masse 124 (E) vorhanden.

Für die genauen Massenbestimmungen sind wir Herrn Dipl.-Chem. G. Remberg zu großem Dank verpflichtet. Der *Schering AG*, Berlin, der *Merck AG*, Darmstadt, den *Farbenfabriken Bayer*, Leverkusen, und den *Canada Packers*, Toronto, danken wir für Substanzproben, der *Deutschen Forschungsgemeinschaft*, dem *Fonds der Chemischen Industrie* und der *Schering AG* für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

## Beschreibung der Versuche

Die Massenspektren wurden mit einem CH 4-Massenspektrometer (EB 4 Ionenquelle) durch direkte Einführung der Proben in die Ionenquelle aufgenommen. Die Verdampfungstemperatur betrug für die Androstandione 50°, für die Pregnantrione 90°, die Ionenquellentemperatur 75–85° und die Elektronenenergie 70 eV.

Von sämtlichen Schlüsselbruchstücken, die im Text erwähnt sind, wurde mit Hilfe eines SM 1-Massenspektrometers die genaue Masse bestimmt.

Alle Proben wurden vor Aufnahme der Massenspektren durch Dünnschicht- und Gaschromatographie gereinigt. Die Gaschromatogramme wurden mit einem Varian Aerograph 1520, der mit einem Flammenionisationsdetektor und einem Ganzglassystem ausgestattet ist, ausgeführt. Die Proben wurden direkt auf die Säule gespritzt (Chromosorb W acid washed-DMCS, stationäre Phase: 3% OV 17; Säulentemp. 230–250°, Einspritzblocktemp. 250°, Detektorblocktemp. 260°, Trägergas N<sub>2</sub> 45 ccm/Min.).

Die Oxydationsreaktionen wurden mit Mengen von 1–5 mg ausgeführt, daher ist eine Ausbeuteangabe nicht möglich.

Proben von *5α*- und *5β*-Androstandion-(3.17) sowie *5α*- und *5β*-Pregnan-dion-(3.20) erhielten wir von der Firma Bayer in Leverkusen, *5α*- und *5β*-Androstantrion-(3.6.17), *5α*-Pregnantrion-(3.6.20) und *5β*-Pregnantrion-(3.11.20) von der Firma Schering in Berlin.

*5α*-Androstandion-(1.17) stellten wir durch CrO<sub>3</sub>/Eisessig-Oxydation<sup>20)</sup> von *5α*-Androstandiol-(1β.17β) dar, Schmp. 169–171° (Äther).

*5β*-Pregnan-dion-(3.12) wurde aus *3α*-Hydroxy-*5β*-pregnanon-(12)<sup>21)</sup> durch CrO<sub>3</sub>/Eisessig-Oxydation erhalten.

*5α*-Androstantrion-(3.11.17) wurde analog der Oxydation von *3α.11β*-Dihydroxy-*5α*-androstanon-(17)<sup>22)</sup> aus *11β*-Hydroxy-*5α*-androstandion-(3.17) durch CrO<sub>3</sub>/Eisessig-Oxydation hergestellt.

*5β*-Androstantrion-(3.11.17)<sup>22)</sup> wurde in gleicher Weise aus *3α.17α.20α*-Trihydroxy-*5β*-pregnanon-(11) erhalten.

*5α*-Androstantrion-(3.7.17) wurde nach Kagan<sup>23)</sup> aus *3β*-Hydroxy-*5α*-androstandion-(7.17) gewonnen.

*5α*-Pregnantrion-(3.7.20) stellten wir analog der Oxydation von *3ξ.7ξ*-Dihydroxy-*5α*-pregnanon-(20)<sup>24)</sup> aus *3β*-Hydroxy-*5α*-pregnan-dion-(7.20) durch CrO<sub>3</sub>/Eisessig-Oxydation dar.

*5α*-Pregnantrion-(3.11.20) wurde wie folgt erhalten<sup>25)</sup>: *11α*-Hydroxy-progesteron wurde durch 6stdg. Hydrieren mit Adams-Katalysator in Eisessig unter Normaldruck zu einem

<sup>20)</sup> S. Liebermann, E. R. Katzenellenbogen, R. Schneider, P. E. Studer und K. Dobriner, J. biol. Chemistry **205**, 87 (1953).

<sup>21)</sup> P. Ziegler und J. C. Grivas, Canad. J. Chem. **46**, 1574 (1968).

<sup>22)</sup> L. H. Sarett, J. Amer. chem. Soc. **70**, 1690 (1948).

<sup>23)</sup> H. B. Kagan und J. Jacques, Bull. Soc. chim. France **1960**, 1551.

<sup>24)</sup> Upjohn Co., Brit. Pat. 71 33 79, C. **1956**, 804.

<sup>25)</sup> M. Steiger und T. Reichstein, Helv. chim. Acta **21**, 161 (1938).

Gemisch von  $5\alpha$ - und  $5\beta$ - $3\xi$ - $11\alpha$ -Dihydroxy-pregnanon-(20) umgesetzt. Das Gemisch wurde mit  $CrO_3$ /Eisessig oxydiert, und danach wurden die Isomeren dünn-schichtchromatographisch getrennt (Kieselgel HR, Merck; Laufmittel Diäthyläther).

$5\beta$ -Pregnantrion-(3.6.20) wurde aus  $3\alpha$ . $6\alpha$ -Dihydroxy- $5\beta$ -pregnanon-(20) durch Oxydation mit  $CrO_3$  in Aceton<sup>26)</sup> erhalten. Schmp. 223–226°. Bei der Darstellung der Verbindung durch Oxydation in Eisessig — wie von *Moffett* beschrieben<sup>27)</sup> — wird ein Gemisch des  $5\alpha$ - und  $5\beta$ -Isomeren (in Gegenwart von Säure entsteht das Enol) erhalten.

$5\alpha$ - und  $5\beta$ -Pregnantrion-(3.15.20) wurden ähnlich, wie in der Literatur<sup>28)</sup> beschrieben, dargestellt:  $15\alpha$ -Hydroxy-progesteron wurde durch 5stdg. Hydrieren mit Pd/C in Äthanol unter Normaldruck zu den an C-5 isomeren  $15\alpha$ -Hydroxy-pregnandionen-(3.20) umgesetzt. Die Isomeren wurden auf Dünnschichtplatten (Kieselgel HR, Merck) mit Chloroform/Methanol (95 : 5) getrennt. Die Oxydation zu den *Triketonen* erfolgte wieder mit  $CrO_3$ /Eisessig.

<sup>26)</sup> C. Djerassi, R. R. Engle und A. Bowers, J. org. Chemistry **21**, 1547 (1956).

<sup>27)</sup> R. B. Moffett, J. E. Stafford, J. Linsk und W. M. Hoehn, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1857 (1946).

<sup>28)</sup> C. Djerassi, L. B. High, J. Fried und E. F. Sabo, J. Amer. chem. Soc. **77**, 3673 (1955).