

## 97. 2-Pyridylhydrazone als Carbonylderivate zur Steuerung der Fragmentierung in der Massenspektrometrie

von Walter Vetter und Walter Meister

Zentrale Forschungseinheiten, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, CH-4002 Basel

Herrn Prof. Dr. Walter Boguth zum 65. Geburtstag gewidmet

(19. II. 82)

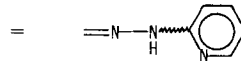
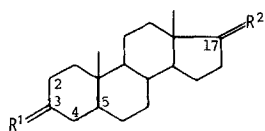
### 2-Pyridylhydrazones as Carbonyl Derivatives to induce Fragmentation in Mass Spectrometry

#### Summary

It was found that the 2-pyridylhydrazone is a derivative of the carbonyl group, which is able to induce fragmentation of an alicyclic skeleton with an efficiency comparable to that of the tertiary amino group and the ethylene acetal group.

**Einleitung.** – Tertiäre Amine und Äthylenacetale, gefolgt von sekundären Aminen und Thioacetalen, gelten seit langem als jene funktionellen Gruppen, die mit Abstand den stärksten Zwang auf die Fragmentierung von gesättigten Kohlenstoffgerüsten nach Elektronenstoss-Ionisierung ausüben [1] [2].

Schema 1



	R <sup>1</sup>		R <sup>2</sup>		
	<i>a</i>	<i>β</i>	<i>a</i>	<i>β</i>	
1	H	OH	H	$\begin{matrix} 20 \\ -C=N-NH-C_5H_4N \\   \\ CH_3 \end{matrix}$	Δ-5
2	H	OH	=N-NH-C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N		
3	=N-NH-C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N		H	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	
4	=N-NH-C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N		Äthylenacetal		
5	H	NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Äthylenacetal		
6	H	1-PyrrolidinyI	Äthylenacetal		
7	= O		Äthylenacetal		
8	H	OH	H	$\begin{matrix} 20 \\ C=N-NH-C_6H_5 \\   \\ CH_3 \end{matrix}$	Δ-5

Auf der Suche nach Derivaten von aliphatischen Carbonylverbindungen, in denen die Struktur der Kette im Massenspektrum deutlich zum Ausdruck kommen sollte [3], stiessen wir auf das 2-Pyridylhydrazon. Dieses Derivat zeigte in überraschender Weise nicht das für manche aliphatisch substituierten Pyridyl-Derivate typische Verhalten, nämlich die intramolekulare Protonierung des Pyridin-N-Atoms [3], sondern eine ausgeprägte Tendenz zur Spaltung einer der  $\alpha$ -ständigen C, C-Bindungen.

Da sich diese Derivate, wie andere Hydrazone, äusserst einfach herstellen lassen [4] [5], erschien es uns vom analytischen Standpunkte aus interessant, ihre Fähigkeit zur Lenkung der Fragmentierung alicyclischer Verbindungen im Vergleich zu Aminen und Acetalen etwas näher zu untersuchen. Die untersuchten Verbindungen sind im *Schema 1* zusammengestellt.

#### Experimenteller Teil.

Das Keton (0.2 mg) wird in ca. 0.4 ml Methanol gelöst (eventuell mit Erwärmen). Mit einem Spatel werden ca. 2 mg 2-Pyridylhydrazin  $\cdot$  2 HCl (*Aldrich*) zugesetzt. Die homogene Lösung wird nach 10 Min. unter  $N_2$ -Strom eingedampft. Der Rückstand wird auf je 2 ml Äther und ges. wässrige  $NaHCO_3$ -Lösung verteilt, wobei das überschüssige Reagenz fast quantitativ in der wässrigen Phase bleibt. Die Ätherphase wird mit  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. Vom Rückstand wird das Massenspektrum aufgenommen (*MS 9*, Elektronenstoss-Ionisation, 70 eV, 250°).

**Resultate und Diskussion.** – Die *Figuren 1 bis 3* zeigen die Massenspektren der 2-Pyridylhydrazone **1**, **2** und **3** von drei Steroiden mit Carbonylgruppen in den typischen Stellungen 3, 17 und 20. In allen drei Fällen beherrscht die funktionelle Gruppe die Fragmentierung weitgehend, in qualitativ gleicher Weise und offensichtlich auch mechanistisch wie die entsprechenden Äthylenacetale oder Amine [2]. Unterschiede treten nur in quantitativer Hinsicht auf, wo mehrere Fragmentierungen parallel ablaufen; sie wurden nicht näher untersucht.

Um einen Anhaltspunkt über die relative Stärke der Fragmentierungslenkung dieses Derivates im Vergleich zu Amin und Acetal zu bekommen, wurden je zwei der Gruppen an einem Steroidskelett in einen Wettbewerb gebracht. Ein Androstangerüst mit einer Acetalgruppe in Stellung 17 wurde in Stellung 3 mit einer sekundären Aminogruppe und einer tertiären Aminogruppe (durch reduktive Aminierung hergestellt) [6] bzw. mit einer 2-Pyridylhydrazon-Gruppe versehen (Verbindungen **4**, **5** und **6**).

Das Resultat dieses Versuches ist in den *Figuren 4 bis 6* wiedergegeben. Die den verschiedenen Gruppen zuzuordnenden Pike sind in den Abbildungen mit  $\textcircled{K}$  für Acetal (Ketal),  $\textcircled{A}$  für Amin und  $\textcircled{P}$  für Pyridylhydrazon bezeichnet. Die Intensitäten der Pikgruppen zeigen, dass die Stärke des Einflusses des Hydrazons zwischen der einer tertiären und der einer sekundären Aminogruppe liegt, und die des Acetals übertrifft.

Zum Vergleich mit diesen stark fragmentierenden funktionellen Gruppen ist in der *Figur 7* das Massenspektrum des analogen 3-Keto-17-acetals wiedergegeben, in dem die Anwesenheit der Ketogruppe aus der Fragmentierung praktisch nicht erkennbar ist.

Hydrazone beeinflussen im allgemeinen die Fragmentierung aliphatischer Verbindungen nicht in charakteristischer Weise, wie am Beispiel von Dimethyl-

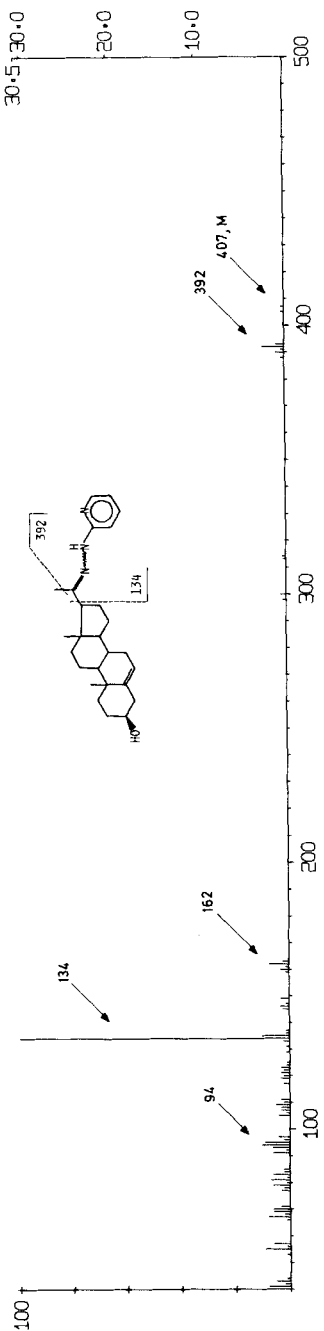


Fig. 1. Massenspektrum von 3β-Hydroxy-20-(2-pyridylhydrazono)-5-pregnen (1)

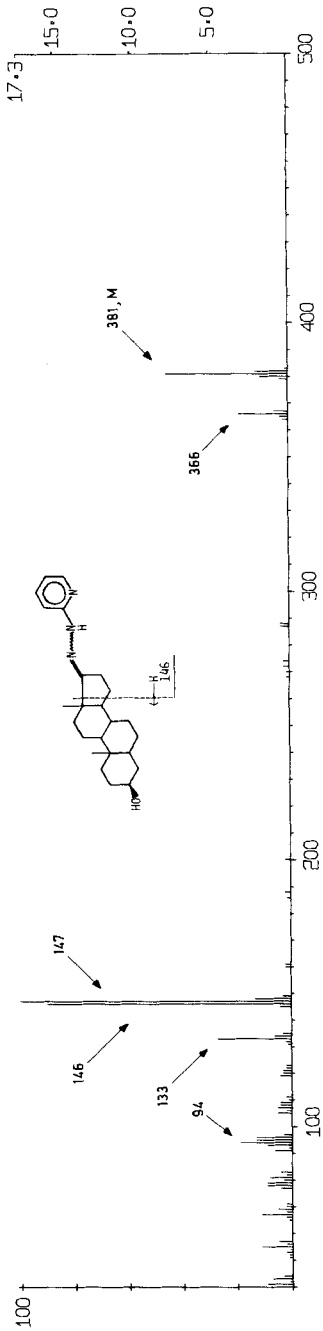


Fig. 2. Massenspektrum von 3β-Hydroxy-17-(2-pyridylhydrazono)androstan (2)

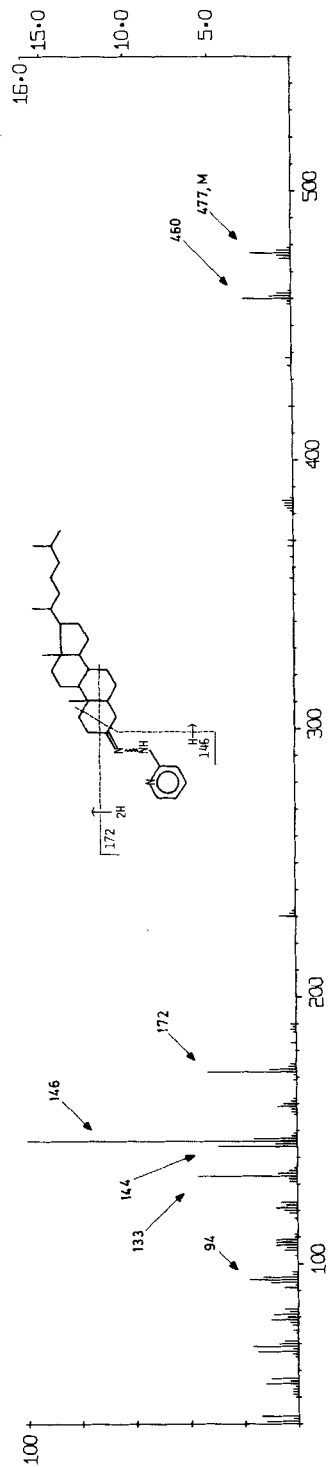


Fig. 3. Massenspektrum von 3-(2-Pyridylhydrazono)cholestan (3)

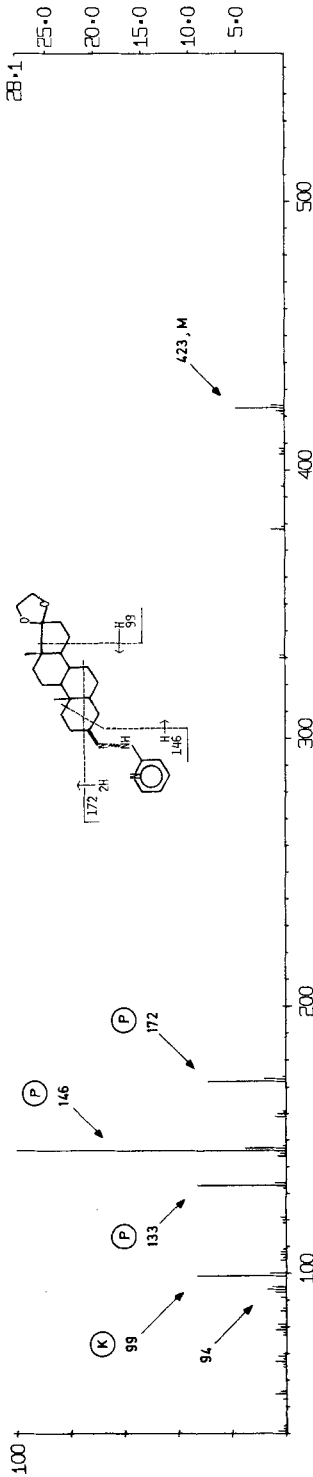


Fig. 4. Massenspektrum von 3-(2-Pyridylhydrazono)-17-äthylendioxyandrostan (4)

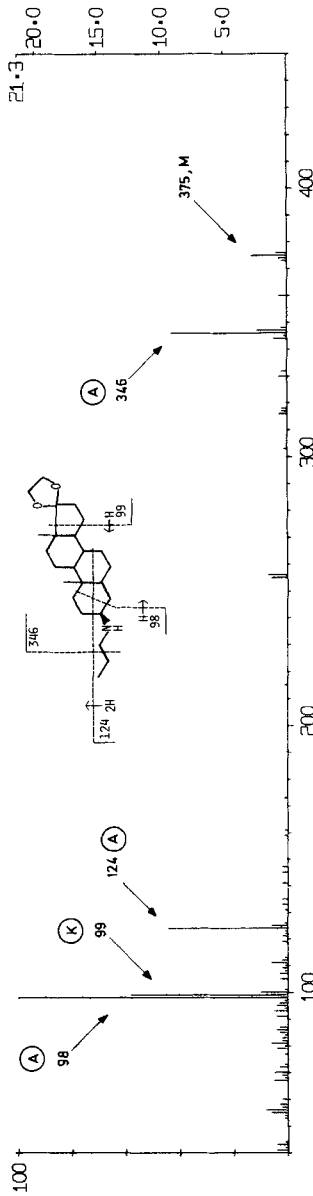


Fig. 5. Massenspektrum von 3-β-Propylamino-17-äthylendioxyandrostan (5)

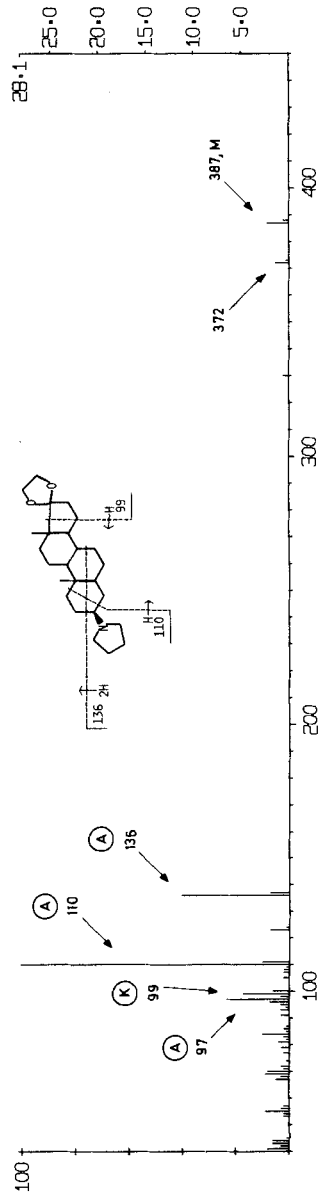


Fig. 6. Massenspektrum von 3-β-Pyrrolidino-17-äthylendioxyandrostan (6)

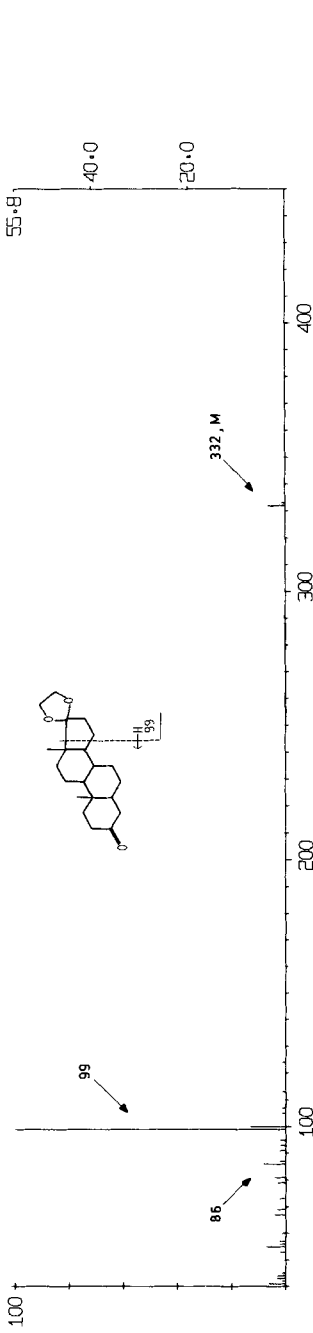


Fig. 7. Massenspektrum von 17-Äthylendioxyandrostan-3-on (7)

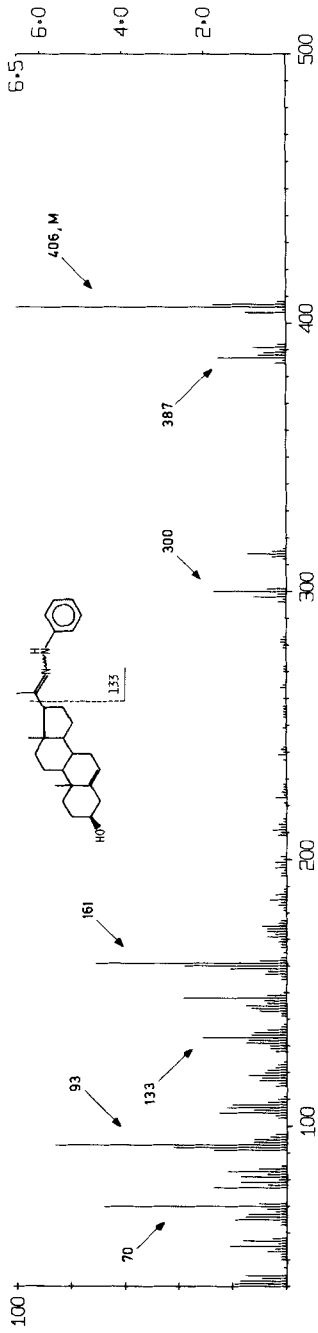
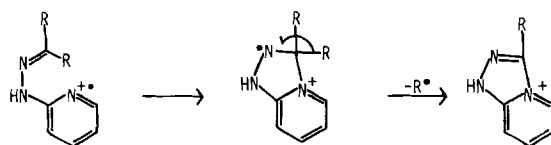


Fig. 8. Massenspektrum von 3β-Hydroxy-20-phenylhydrazono-5-pregnen (8)

hydrazonen [7] und Dinitrophenylhydrazonen [8] gezeigt worden ist. Zur Bestätigung dieser Befunde wurde das Massenspektrum des Phenylhydrazons von 3-Hydroxypregn-5-en-20-on (dessen 2-Pyridylhydrazon in *Figur 1* wiedergegeben ist) aufgenommen. Es ist in *Figur 8* dargestellt und zeigt, wie erwartet, schwache  $\alpha$ -Fragmentierung und als auffallendes Merkmal nur einen Molekular-Ion-Pik von hoher Intensität.

Das abweichende Verhalten der 2-Pyridylhydrazone wirft die Frage nach der besonderen strukturellen Eigenschaft dieser Hydrazone auf. Der  $\alpha$ -Bruch bei Acetalen und Aminen wird durch die dabei entstehenden besonders stabilen Oxonium- bzw. Immonium-Ionen verursacht [1] [2]. Ein ähnlich stabilisiertes Ion kann aus 2-Pyridylhydrazonen entstehen, wenn die Fragmentierung mit einer Quaternisierung des Pyridin-N-Atoms gekoppelt ist (*Schema 2*).

*Schema 2*



Verwandte Ringschlussreaktionen des Pyridylrestes mit anschliessender Abspaltung radikalischer Reste wurden an mehreren aromatischen Beispielen eingehend untersucht [9].

Über den Zusammenhang von Ladungslokalisierung und Fragmentierung in polyfunktionellen Molekeln mit starrem Skelett [10] lässt sich aus den Beispielen 4 bis 7 folgendes entnehmen. Das Ionisationspotential der 2-Pyridylhydrazongruppe dürfte deutlich unter dem der Acetalgruppe liegen (Phenylhydrazin: 7.64 eV, [11], Pyridin: 9.27 eV gegenüber Acetaldehyddimethylacetal: 9.65 eV und Tetrahydrofuran: 9.45 eV). Ladungslokalisierung am Energieminimum ist daher qualitativ im Einklang mit der bevorzugten Fragmentierung an der Hydrazongruppierung. Dasselbe gilt auch für den Vergleich von Amin und Acetal (z.B. Triäthylamin: 7.50 eV; Diäthylamin: 8.01 eV). Im Falle der Gegenüberstellung von Keton und Acetal (*Fig. 7*) geht jedoch trotz des relativ tiefen Ionisationspotentials der Keto-Gruppe (z.B. Cyclohexanon: 9.14 eV) der grösste Teil der Fragmentierung von der Acetalgruppe aus, was deutlich zeigt, dass die Ladungslokalisierung am Energieminimum für die Fragmentierung nicht ausschlaggebend ist [10].

2-Pyridylhydrazone sind relativ schwer flüchtige Verbindungen und haben überdies teilweise die Tendenz, nach dem Mechanismus der *Fischer'schen* Indolsynthese sich in 7-Azaindole umzuwandeln, wenn sie erhitzt werden [12]. Die Pike  $m/z$  460 und  $m/z$  144 sind Spuren dieser Umwandlung des 2-Pyridylhydrazons 3 (*Fig. 3*). Die Reaktion führt unter Verlust von Ammoniak zu einem in 2,3-Stellung des Steroids annelierten 7-Azaindol, dessen Molekulargewicht bei  $m/z$  460 liegt und das eine *Retro-Diels-Alder*-Fragmentierung eingeht, die zu dem Fragment mit  $m/z$  144 führt.

Unter diesen Umständen erscheint die Analyse dieser Derivate mittels GC./MS. für grössere Ketone nicht aussichtsreich. Der Ersatz des H-Atoms am Hydraxon durch eine Alkyl- oder Acylgruppe würde die Situation wahrscheinlich nur wenig verbessern.

Die 2-Pyridylhydrazone könnten, trotz dieses Nachteiles, wegen ihrer einfachen Herstellung als Carbonylderivate zur Erzwingung bestimmter Fragmentierungen in alicyclischen Skeletten die üblichen Äthylenacetale häufig vorteilhaft ersetzen.

Herrn Dr. *W. Meier* (*F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel) danken wir herzlich für die Überlassung des Acetals 7.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] a) *W. Vetter, P. Longevialle, F. Khuong-Huu Lainé, Q. Khuong-Huu & R. Goutarel*, Bull. Soc. Chim. Fr. 1963, 1324; b) *L. Dolejš, V. Hanuš, V. Černý & F. Šorm*, Coll. Czech. Chem. Commun. 28, 1854 (1963); c) *Z. Pelah, D.H. Williams, H. Budzikiewicz & C. Djerassi*, J. Am. Chem. Soc. 87, 574 (1965); d) *H. Audier, J. Bottin, A. Diara, M. Fétizon, P. Foy, M. Golfier & W. Vetter*, Bull. Soc. Chim. Fr. 1964, 2292.
- [2] a) *P. Longevialle*, Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques, Verlag Masson, Paris, 1981, Seiten 67 und 80; b) *F.W. McLafferty*, Interpretation of Mass Spectra, Verlag: University Science Books, Mill Valley, Cal. 1980, Seite 213.
- [3] *W. Vetter & W. Meister*, Org. Mass Spectrom. 16, 118 (1981).
- [4] *A.I. Vogel*, Practical Organic Chemistry, Longmans, London, 1962, Seite 172.
- [5] *W.J.A. Van den Heuvel & E.C. Horning*, Biochim. Biophys. Acta 74, 560 (1963).
- [6] *R. Glaser & E.J. Gabbay*, J. Org. Chem. 35, 2907 (1970).
- [7] *D. Goldsmith & C. Djerassi*, J. Org. Chem. 31, 3661 (1966).
- [8] *R.J. Liedtke, A.M. Duffield & C. Djerassi*, Org. Mass Spectrom. 3, 1089 (1970).
- [9] a) *R. Schubert & H.F. Grützmacher*, Org. Mass Spectrom. 15, 122 (1979); b) *R. Schubert, D.V. Ramana & H.F. Grützmacher*, Chem. Ber. 113, 3758 (1980); c) *R. Schubert & H.F. Grützmacher*, J. Am. Chem. Soc. 102, 5323 (1980).
- [10] a) *W. Vetter, W. Meister & W.J. Richter*, Org. Mass Spectrom. 3, 777 (1970); b) *D.H. Williams & J.H. Beynon*, Org. Mass Spectrom. 11, 103 (1976).
- [11] *R.W. Kiser*, Introduction to Mass Spectrometry and its applications, Verlag: Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, N.J., USA, 1965, Seite 308.
- [12] *B. Robinson*, Chem. Rev. 69, 227 (1969).