

Massenspektroskopie und ihre Anwendung auf strukturelle und stereochemische Probleme, 15. Mitt.¹:

Steroidsapogenine

Von

H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und Carl Djerassi

Aus dem Department of Chemistry, Stanford University, Stanford, California.

Mit 7 Abbildungen

(Eingegangen am 12. Juli 1962)

Es wurden die Massenspektren einer Reihe von Steroidsapogeninen gemessen und Strukturen für die wichtigsten Fragmentierungsionen vorgeschlagen. Steroidsapogenine geben ein charakteristisches Fragmentierungsmuster, das zur Identifizierung dieser Verbindungen herangezogen werden kann sowie Rückschlüsse auf bestimmte Substituenten zuläßt.

Systematische massenspektroskopische Arbeiten auf dem Gebiet der Steroide liegen nur für Gallensäuren², gesättigte Steroidketone³ und Östrogene¹ vor.

Im Zuge unserer Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen dem massenspektroskopischen Fragmentierungsverhalten und der Struktur und Stereochemie polycyclischer organischer Verbindungen⁴ möchten wir in der vorliegenden Arbeit über Steroidsapogenine berichten. In der

¹ 14. Mitt.: C. Djerassi, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz und J. W. Chamberlin, J. Amer. Chem. Soc. (im Druck).

² S. Bergström, R. Ryhage und E. Stenhagen, Svensk Kern. Tids. **73**, 566 (1961) und frühere Arbeiten.

³ H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **84**, 1430 (1962).

⁴ Im besonderen Steroide (Ref. 1 und 3), Triterpene (C. Djerassi, H. Budzikiewicz und J. M. Wilson, Tetrahedron Letters 263 (1962) und Alkaloide (M. Plat, J. Le Men, M.-M. Janot, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz, L. J. Durham, Y. Nakagawa und C. Djerassi, Tetrahedron Letters 271 [1962] und dort angeführte frühere Arbeiten).

Literatur finden sich bisher nur die Massenspektren von Hecogenin⁵ sowie von Sarsapogenin und Sarsapogenon², die im Zusammenhang mit anderen Steroidspektren veröffentlicht wurden. Nur in den beiden letzten Fällen wurden Strukturen für einige der Fragmente vorgeschlagen.

Die für Steroidsapogenine⁶ typische Fragmentierung findet in den beiden heterocyclischen Ringen statt und soll am Beispiel des einfachsten Vertreters dieser Klasse, des Deoxytigogenins, erläutert werden. Deoxytigogenin (I) weist zwischen dem Molekülion (m/e 400) und dem Ion m/e 257 ein charakteristisches Fragmentierungsmuster (Abb. 1) auf, das durch Veränderungen in den Ringen A, B und C⁷, abgesehen von einer Verschiebung um die entsprechende Zahl von Masseneinheiten, nicht beeinflusst wird und somit zur Charakterisierung der Ringe E und F herangezogen werden kann⁸.

Fragmentierung in Ring E (m/e 257, 271 und 286 in I)

Diese Fragmente erleiden durch Substitution in den Ringen A, B, C oder D eine Verschiebung um die entsprechende Zahl von Masseneinheiten. Sie erscheinen z. B. in Diosgenin (II, Abb. 2), Tigogenon (III, Abb. 3) und 15-Keto-deoxytigogenin (V, Abb. 5), mit m/e 271, 285 und 300, in Hecogenin⁵ mit m/e 287, 301 und 316 auf. Substitution in Ring F, wie Einführung einer Ketogruppe oder eines Bromatoms an C-23 (vgl. Abb. 4 und 7) sowie Veränderung der Struktur von Ring F, wie in Cholegenin (VI, Abb. 6), beeinflusst hingegen ihre Masse nicht. Dies zeigt, daß diese Fragmente die Ringe A—D, nicht aber Ring F enthalten.

Die Entstehung des Ions m/e 257 kann durch Verlust der Ringe E und F sowie eines weiteren Wasserstoffatoms erklärt werden. Ein plausibler Mechanismus ist primäre Sprengung der Bindung zwischen den hoch substituierten C-Atomen 17 und 20, gefolgt von Übertragung eines

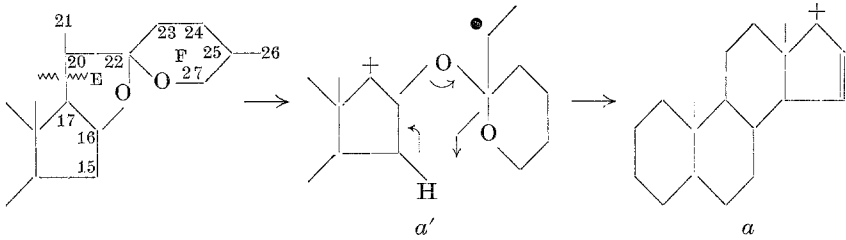
⁵ H. J. M. Fitches, Symposium on Mass Spectrometry, Oxford, 1961, Pergamon Press, London, im Druck.

⁶ Zusammenfassungen über die Chemie der Steroidsapogenine sind erschienen in „Steroids“ von L. F. Fieser und M. Fieser, Reinhold, New York, 1959, Kap. 21 sowie in „Chemie steroidních sloučenin“ von V. Černý et al., Nakladatelství Československé akademie věd, Prag, 1960, S. 1111ff.

⁷ Z. B. Substitution des C-3 mit einer Hydroxyl- (Diosgenin, II, Abb. 2) oder Ketogruppe (Tigogenon, III, Abb. 3), des C-11 (11-Ketotigogenin, Spektrum nicht wiedergegeben) oder C-12 (Hecogenin⁵) mit einer Ketogruppe oder Einführung einer Doppelbindung zwischen C-5 und C-6 (Diosgenin, II, Abb. 2).

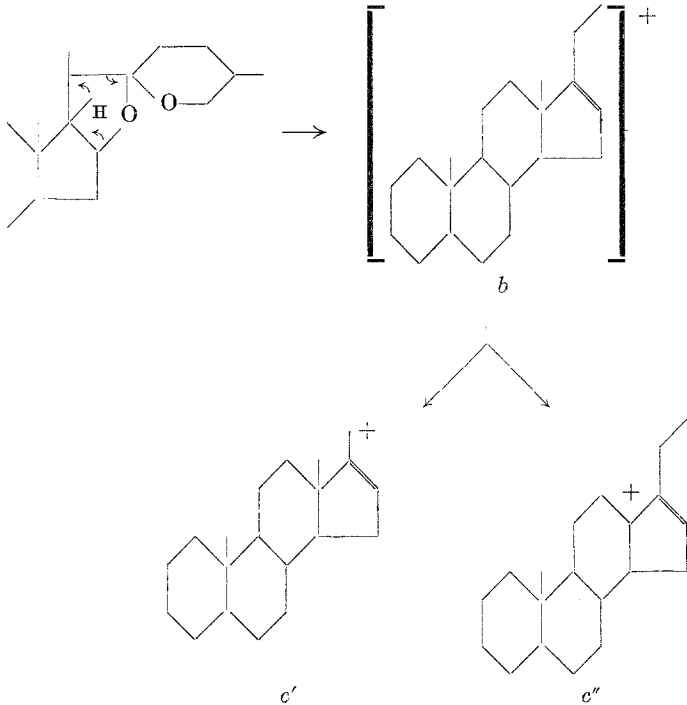
⁸ Da, wie im folgenden gezeigt werden soll, alle diese Fragmente Ring A—D enthalten, geben z. B. Verbindungen, die in einem dieser Ringe eine Hydroxylgruppe enthalten (vgl. Diosgenin, II, Abb. 2), zusätzlich Ionen, die durch Abspaltung von H₂O entstanden sind. Das gleiche gilt für andere leicht abspaltbare Gruppen.

H-Atoms von C-15 zum Sauerstoff des Pyranringes in einem sechsgliedrigen Übergangszustand:



Die positive Ladung im entstandenen Ion *a* ist durch die allylische Doppelbindung stabilisiert.

In einer Verbindung, die am C-15 doppelt substituiert ist, sollte ein entsprechendes Fragment fehlen, da die angenommene Übertragung eines H-Atoms ($a' \rightarrow a$) nicht möglich ist. In 15-Ketodeoxytigogenin⁹ (V, Abb. 5) findet die Bildung des Ions *a* im Vergleich zu I (Abb. 1) in bedeutend geringerem Ausmaß statt. Ob die Tatsache, daß im Spektrum von V dennoch ein Fragment mit einer *a* entsprechenden Masse (m/e)



⁹ N. L. Allinger, R. B. Hermann und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. 25, 922 (1960).

271) beobachtet wird, gegen den angenommenen Fragmentierungsmechanismus spricht oder — was wahrscheinlicher ist — im Falle der Ketoverbindung eine andere Bildungsweise (s. unten) von *a* anzunehmen ist, ist ohne entsprechende Markierungsversuche mit Deuterium nicht zu entscheiden.

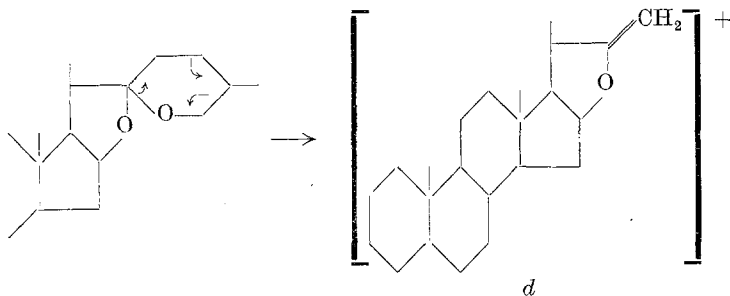
Das Fragment *m/e* 286 enthält das vollständige Steroidgerüst zusammen mit zwei weiteren C-Atomen; eine mögliche Bildungsweise ist aus dem folgenden Formelschema ersichtlich.

Das Ion *m/e* 271 entsteht höchstwahrscheinlich aus *b* durch Abspaltung einer Methylgruppe¹⁰; C-18 und C-21 erscheinen als gleich wahrscheinlich, da für beide allylische Aktivierung der betroffenen Bindung durch die neu gebildete Doppelbindung in *b* vorliegt; ob und zu welchem Ausmaß die beiden Methylgruppen an der Bildung des Ions *c* (*c'* oder *c''*) beteiligt sind, läßt sich jedoch ohne entsprechende Markierungsversuche nicht feststellen.

Fragmentierung in Ring F (*m/e* 238,331 und 341 in I)

Die Massen dieser Fragmente werden durch Substitution in den Ringen A—D in gleicher Weise verschoben, wie es mit den bisher diskutierten Ionen der Fall ist. Der Einfluß von Substituenten in Ring F hängt sowohl von der Struktur des gebildeten Bruchstücks als auch vom Fragmentierungsprozeß ab und soll im folgenden behandelt werden.

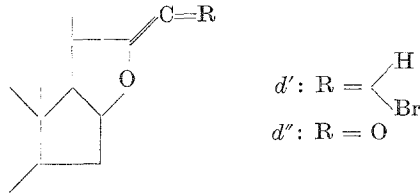
Die Bildung des Ions *m/e* 328 erfolgt offensichtlich durch Zerfall von Ring F in einem sechsgliedrigen Übergangszustand unter Ausbildung



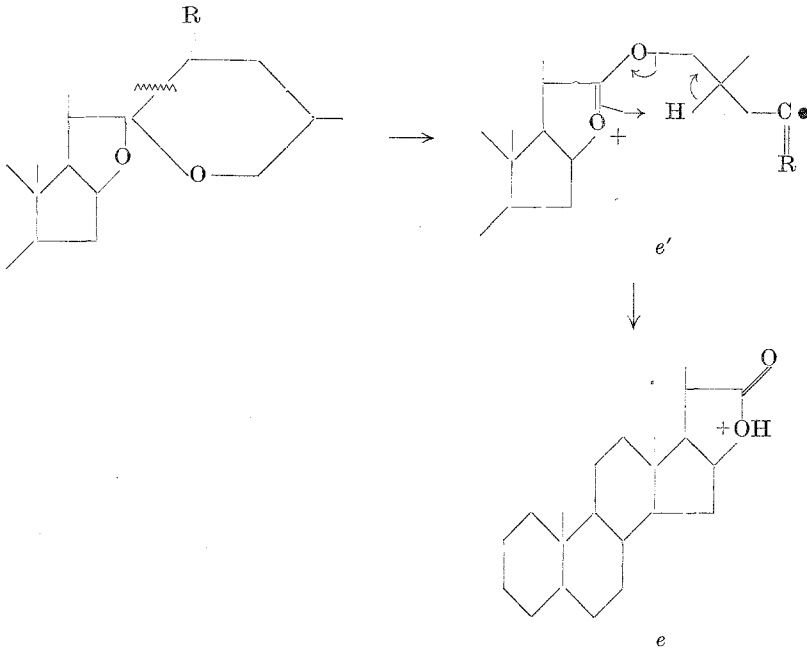
von *d*. Für diesen Mechanismus spricht die Tatsache, daß in 23-Bromdeoxytigogenin (VII, Abb. 7) dieser Fragmentierungsprozeß gegenüber anderen sehr stark zurückgedrängt ist; 23-Bromdeoxytigogenin spaltet nämlich in weitgehendem Maße HBr ab und in der so gebildeten Δ^{23} -Verbindung (*m/e* 398 in Abb. 7) ist Fragmentierung durch den geschilderten cyclischen Mechanismus nicht möglich. Die in geringem Ausmaß dennoch

¹⁰ Ein metastabiles Ion, das diesem Übergang entspricht (ber. *m/e* 256,7), konnte nicht aufgefunden werden, da es mit dem Fragment *m/e* 257 praktisch zusammenfällt.

erfolgende Bildung von d wäre dann durch Fragmentierung des durch Abspaltung von einem Bromatom (an Stelle von HBr) entstandenen Ions h (Abb. 7) unter Umlagerung eines H-Atoms zu erklären. Ein Fragment der Struktur d' , das eigentlich zu erwarten wäre, wird nicht gebildet, ebenso wie ein analoges Fragment d'' von 23-Ketotigogenin fehlt. Anscheinend wird dieser Fragmentierungsprozeß bei der Anwesenheit negativer Gruppen an C-23 unterdrückt.



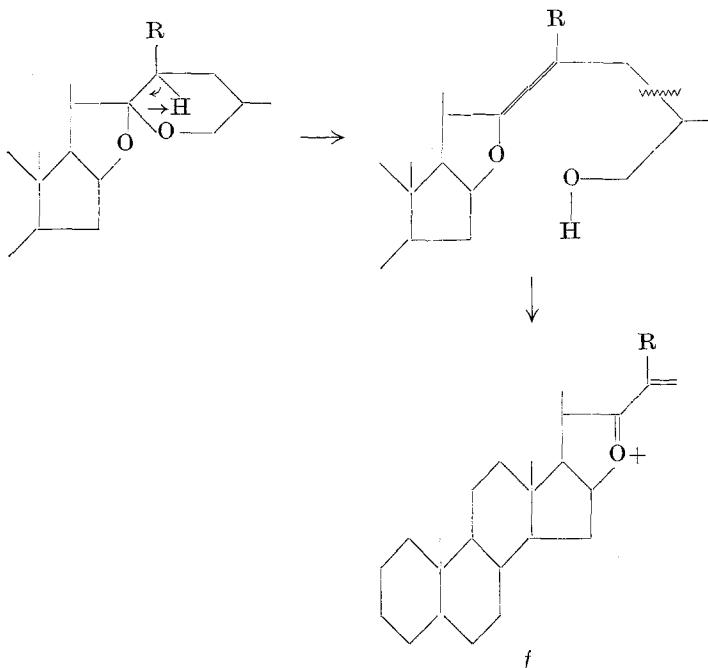
Zur Bildung des Ions m/e 331 kann primär Lösung der Bindung zwischen den C-Atomen 22 und 23 angenommen werden, der Abspaltung des C₅-Bruchstückes unter Übertragung eines H-Atoms an den Sauerstoff des Tetrahydrofuranringes folgt.



In 23-Bromdeoxytigogenin (VII, Abb. 7) und 23-Ketotigogenin (IV, Abb. 4) ist diese Fragmentierung bedeutend begünstigt, da in dem durch primäre Spaltung gebildeten Ion e' ($R = \begin{cases} \text{H} \\ \text{Br} \end{cases}$ bzw. $= \text{O}$) das

Radikal an C-23 durch die freien Elektronen des Brom- bzw. Sauerstoffatoms stabilisiert wird.

Die Bildung des Ions *m/e* 341 kann durch den folgenden Mechanismus erklärt werden: Die Fragmentierung wird durch Lösen der Bindung zwischen C-22 und dem Sauerstoff in Ring F unter Übertragung eines H-Atoms an den Sauerstoff eingeleitet, worauf Spaltung der allylisch aktivierten Bindung zwischen C-24 und C-25 unter Ausbildung des resonanzstabilisierten Ions *f* folgt.



In 23-Ketotigogenin (IV, Abb. 4), in dem der skizzierte Fragmentierungsprozeß nicht möglich ist, fehlt ein entsprechendes Ion; ebenso wenig wird aus 23-Bromdeoxytigogenin ein Fragment der Struktur *f* ($R = \text{Br}$) gebildet, aber in geringem Ausmaß *f* ($R = \text{H}$), dessen Entstehung wohl analog zu der von *d* aus der gleichen Verbindung (s. oben) zu erklären ist.

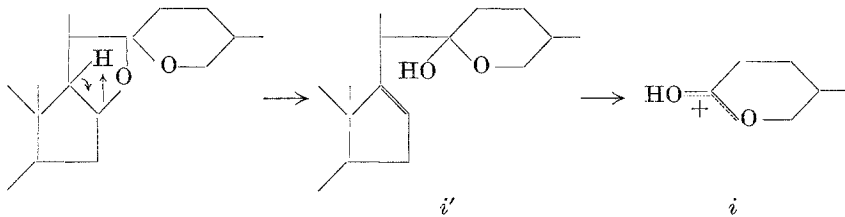
Daß 23-Bromdeoxytigogenin (VII, Abb. 7) zusätzlich zur geschilderten Fragmentierung in Ring F Abspaltung von HBr (*g*) und, in geringerem Maße, Br (*h*) zeigt, wurde bereits erwähnt. 23-Ketotigogenin (IV, Abb. 4) weist ein bedeutendes Fragment auf, dessen Masse um 28 Einheiten niedriger ist als das Molekülion; ein entsprechendes Fragment findet sich auch in 15-Ketodeoxytigogenin (V, Abb. 5). Es handelt sich in beiden Fällen offensichtlich um den Verlust von CO, da eine

Abspaltung von C_2H_4 schwer zu erklären wäre. Eine sichere Entscheidung ist jedoch nur mit einem doppelfokussierenden Instrument möglich.

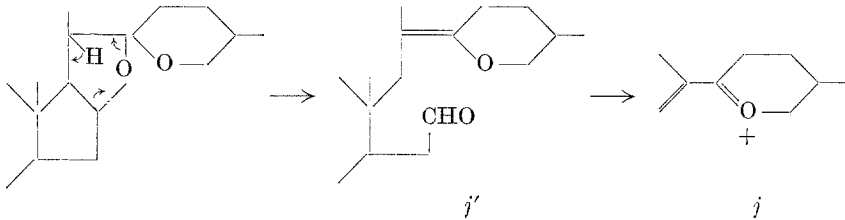
Cholegenin (VI, Abb. 6), dessen Ring F fünfgliedrig ist, weist von den angeführten Fragmenten nur *d* auf, zeigt aber zusätzlich Abspaltung der quartären Methylgruppe und in bedeutend stärkerem Ausmaß der CH_2OH -Gruppe.

Fragmente, die Ring F enthalten (m/e 115 und 139 in I)

Fragmentierung ähnlich der zu *b* führenden, jedoch unter Übertragung eines H-Atoms an den Sauerstoff, ergibt das Ion *i'*, in dem Spaltung der allylisch aktivierten Bindung zwischen C-20 und C-22 sehr begünstigt erscheint. In *i* ist außerdem die positive Ladung durch die beiden Sauerstoffatome stabilisiert.

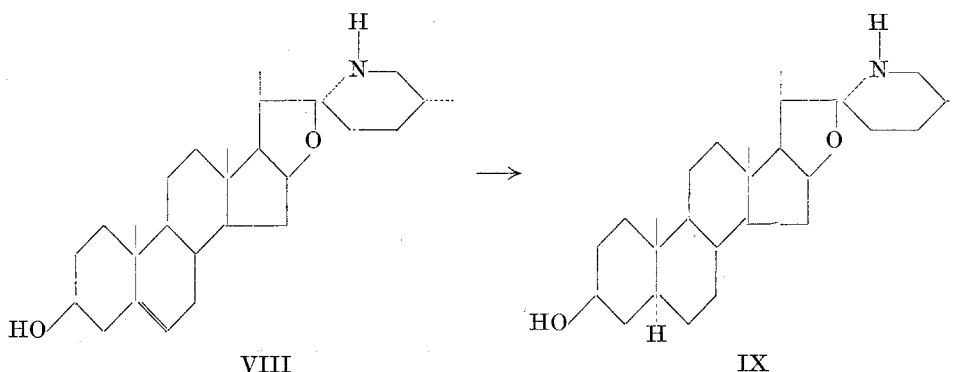


Öffnung des Ringes E, wofür ein sechsgliedriger Übergangszustand sehr wahrscheinlich ist, führt zu *j'*, das durch allylisch aktivierte Spaltung das resonanzstabilisierte Ion *j* ergibt.



Dieses Ion besitzt für alle bisher untersuchten in Ring F unsubstituierten Verbindungen eine sehr hohe Bildungswahrscheinlichkeit und kann somit als charakteristisch für solche Steroidsapogenine angesehen werden; es ist jedoch praktisch abwesend in 23-Bromdeoxytigogenin (VII) und 23-Ketotigogenin (IV).

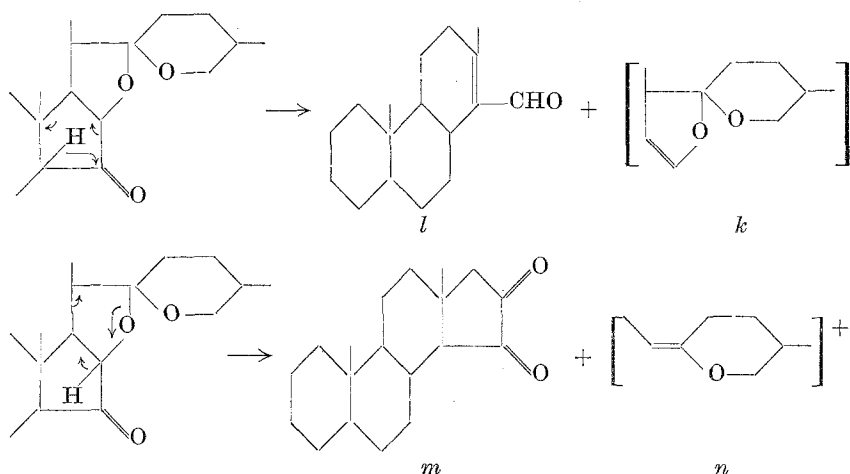
In Cholegenin (VI, Abb. 6) sind die Massen beider Ionen (*i* und *j*) entsprechend der zusätzlichen Hydroxylgruppe um 16 Einheiten höher (m/e 131 und 155). In Solasodin (VIII) und Tomatidin (IX), die sich von Diosgenin (II) bzw. Tigogenin nur durch Ersatz des Ring-F-Sauerstoffs gegen Stickstoff unterscheiden, sind die Ionen *i* und *j* ebenfalls bei weitem die wichtigsten Fragmente, scheinen aber entsprechend um eine Einheit niedriger (m/e 114 und 138) auf.



Diese Markierungen beweisen, daß im Fragment *j* Ring F enthalten ist. Dieses Ion kann als charakteristisch für Steroidsapogenine (sowie auch für die Solanumalkaloide) mit intaktem Spiroketalssystem angesehen und somit zur Identifizierung dieser Verbindungen verwendet werden, was von Bedeutung sein kann, da analytische Resultate nicht immer eine Unterscheidung zwischen Triterpenen und Steroidsapogeninen zulassen und man bisher auf die Interpretation der Banden zwischen 1350 und 875 cm^{-1} im IR-Spektrum⁶ angewiesen war. Verbindungen, in denen Ring F geöffnet ist, geben erwartungsgemäß dieses Fragment nicht (z. B. 3-Acetyokryptogenin² und Dihydrotygogenin⁵).

Es ist zu bemerken, daß 15-Ketodeoxytygogenin (V, Abb. 5) (sowie sein 14 β -Isomeres, das qualitativ das gleiche Fragmentierungsmuster zeigt) zusätzlich zu dem Ion m/e 139 ein weiteres bedeutendes Fragment der Masse m/e 168 aufweist, aus dem das Ion m/e 139 durch weiteren Zerfall entsteht, wie ein metastabiles Ion der Masse 115,5 (berechnet 115) beweist. Daß die Einführung einer Oxofunktion an C-15 den Fragmentierungsprozeß in Ring E beeinflußt, ist verständlich, da die Stabilisierung von positiven Ladungen sowie Radikalen durch die Anwesenheit einer Ketogruppe in anderer Weise möglich ist, als dies für C-15 unsubstituierte Verbindungen der Fall ist. Nimmt man Fragmentierung, wie aus dem folgenden Formelschema ersichtlich, an, so sind beide Endprodukte, sowohl das Ion *k* (m/e 168) als auch das neutrale Spaltstück (*l*), sehr gut stabilisiert. Wie allerdings *k* weiter zu einem Ion der Masse m/e 139 zerfällt, ist nicht leicht ersichtlich und wirft eine Frage auf, die mangels für entsprechende Markierungsversuche genügender Substanzmengen nicht entschieden werden konnte, weshalb wir von mechanistischen Spekulationen absehen wollen.

Das Ion m/e 115 (*i*) fehlt in 15-Ketodeoxytygogenin, dagegen scheint ein Fragment der Masse m/e 126 auf, wofür wir den folgenden Bildungsmechanismus vorschlagen möchten, da auch hier beide Spaltstücke (*m* und *n*) gut stabilisiert erscheinen.

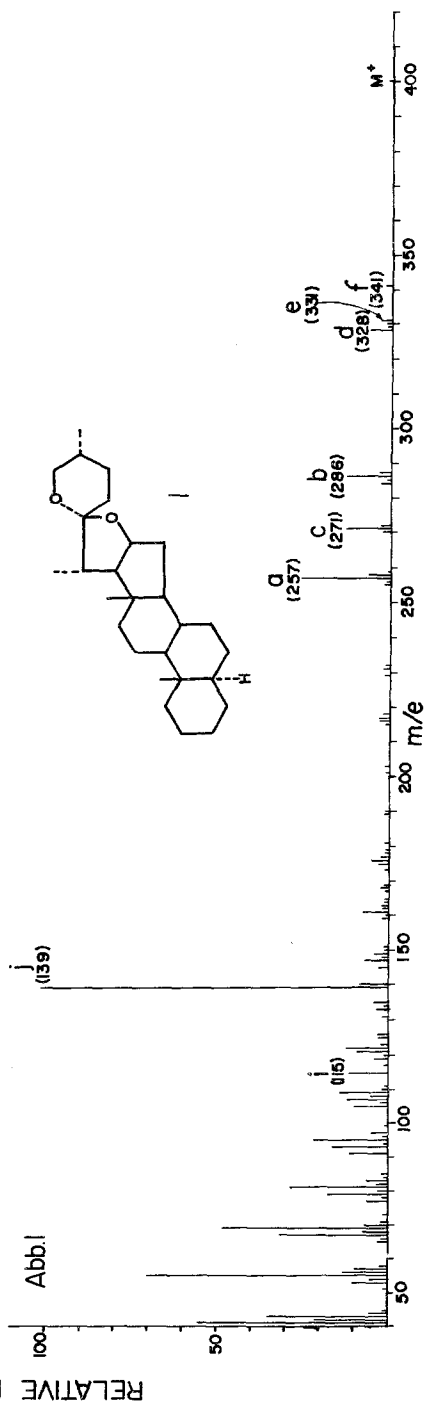
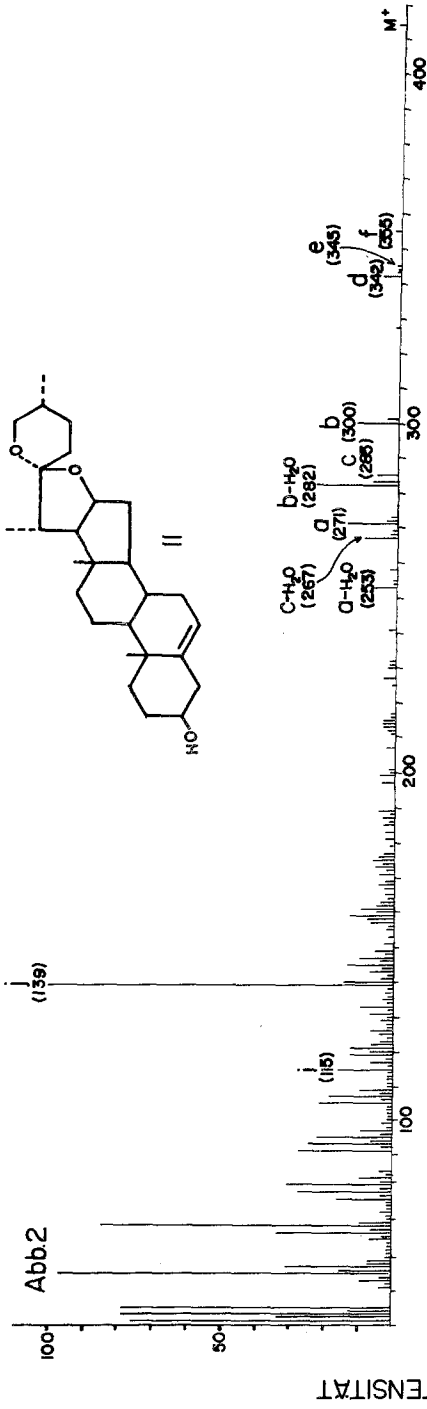


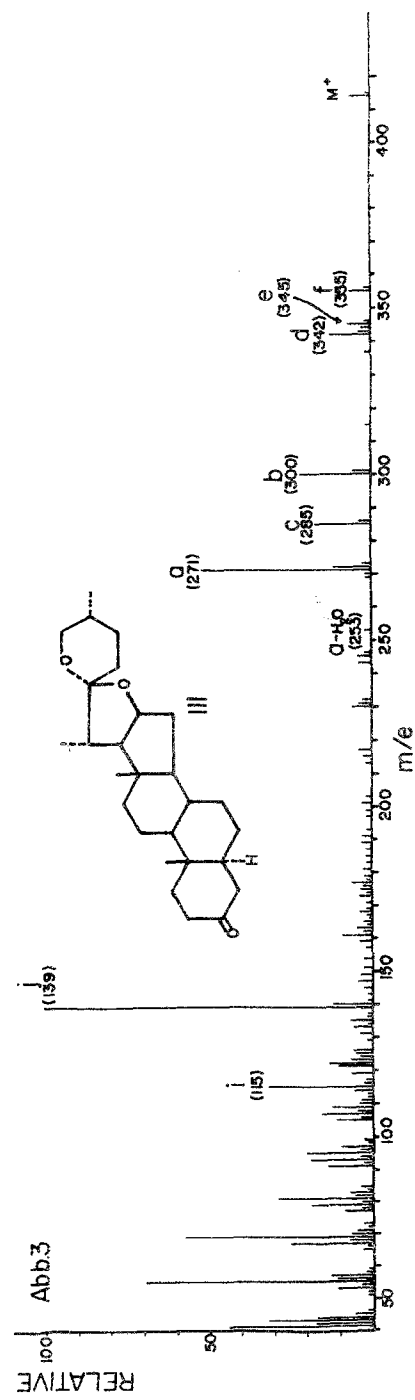
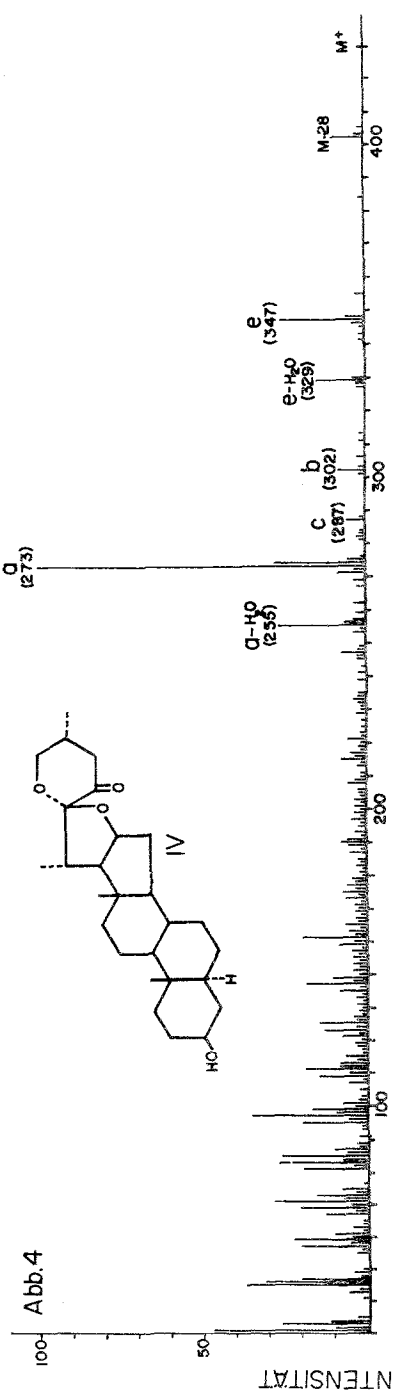
Fragmentierung in den Ringen A—C ist in allen untersuchten Steroid-sapogeninen von untergeordneter Bedeutung. Selbst die Einführung einer Ketogruppe in C-11¹¹ oder C-12⁵, was in Steroiden zu einem typischen Fragmentierungsmuster führt³, ist ohne besonderen Einfluß. Da durch Fragmentierung in diesen Ringen entstandene Ionen nur sehr schwach auftreten und daher die Identifizierung nicht eindeutig möglich ist, haben wir von der Aufstellung von Strukturen abgesehen.

Die Spektren wurden mit einem CEC 103-C Mass Spectrometer mit speziellem Ganzglaseinlaßsystem (Ofentemperatur 260°) mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV gemessen.

Wir möchten an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. *E. Mosettig* † für die Überlassung einer Probe von Cholegenin und der Firma Syntex, S. A., Mexico City, für 23-Ketotigogenin und Solasodin danken. Die vorliegende Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung des National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases (grant No. A-4257) des U. S. Public Health Service durchgeführt.

¹¹ Das Spektrum von 11-Ketotigogenin wurde nicht wiedergegeben, da das Fragmentierungsmuster gegenüber dem von I—III nichts Neues bietet.





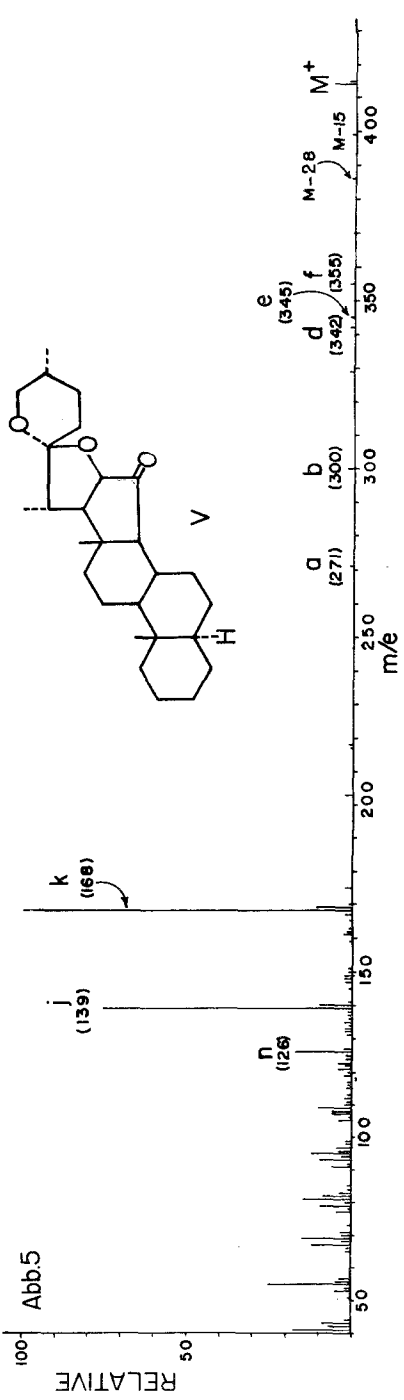
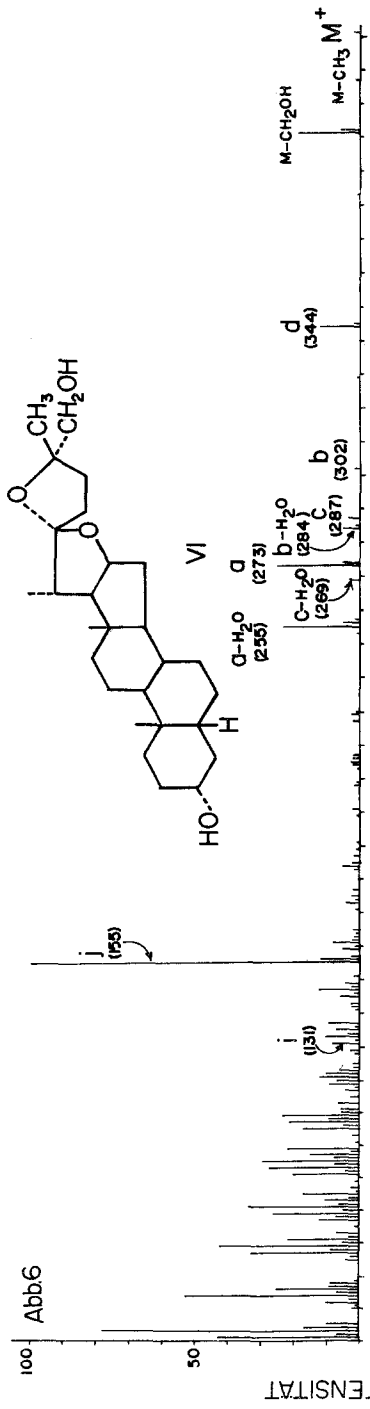


Abb. 7

