

Massenspektren und Stereochemie von Hydroxyverbindungen, 1. Mitt.:

Hydroxysterioide

Von

H. Egger und G. Spiteller*

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 10 Abbildungen

(Eingegangen am 28. Januar 1966)

Die Neigung zur massenspektrometrischen Wasserabspaltung bei Hydroxy-steroiden, insbesondere 3-Hydroxy-steroiden, ist konfigurationsabhängig. Damit wird es in vielen Fällen möglich, aus den Massenspektren solcher Verbindungen Aussagen über ihren sterischen Bau abzuleiten.

Im Zuge dieser Untersuchung ergab sich ferner, daß im allgemeinen 1-substituierte Steroide ziemlich unabhängig von der Art der Substituenten bevorzugt unter Abspaltung der C-Atome 1—4 des Ringes A gespalten werden, während für die meisten 17-Hydroxy-sterioide ein Abbau unter Sprengung des Ringes D charakteristisch ist.

The tendency for hydroxy steroids, especially the 3-hydroxy-compounds, to eliminate water in the mass spectrometer has been found to depend on their configuration. Thus stereochemistry can often be deduced from the mass spectral data.

It has been further observed, that 1-substituted steroids are preferentially cleaved in ring A with the loss of carbons 1 through 4, independent of the type of substituent in position 1. Many 17-OH-steroids undergo characteristic cleavage of ring D.

Im Verlaufe massenspektrometrischer Studien an Aglykonen verschiedener Steroidglykoside** nahmen wir bereits vor längerer Zeit zu Vergleichszwecken die Spektren des 3 β -Hydroxy-5 α -ätiansäuremethyl-

* Neue Anschrift: Organisch-Chemisches Institut der Universität, D-34 Göttingen (Deutsche Bundesrepublik).

** Für die Überlassung der Substanzen danken wir Herrn Prof. Dr. T. Reichstein (Basel).

esters (1)* und 3 β -Hydroxy-5 β -ätiansäuremethylesters (2)** auf (Abb. 1).

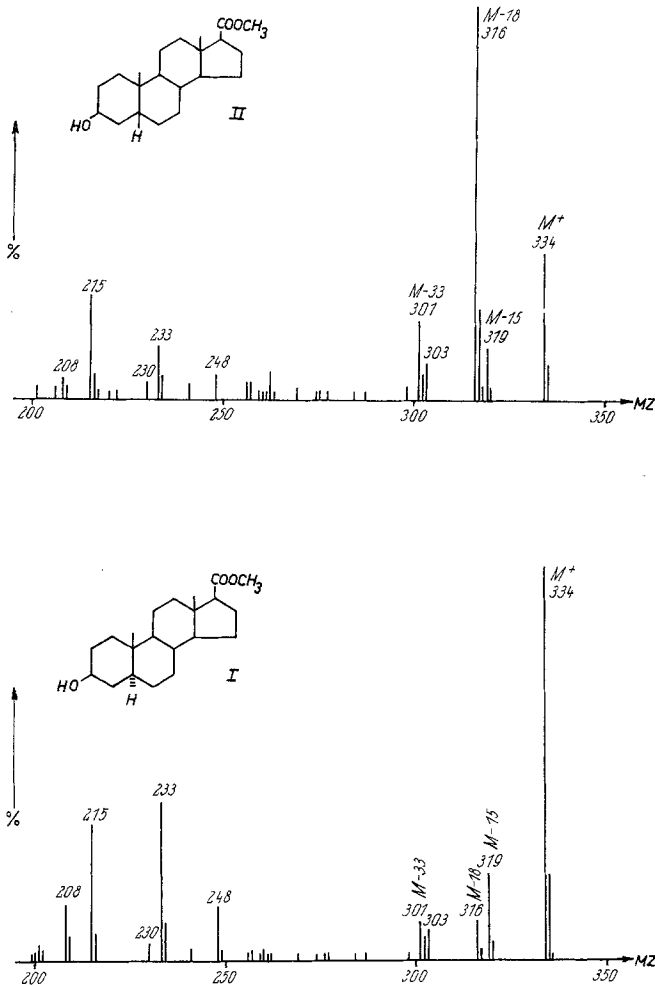


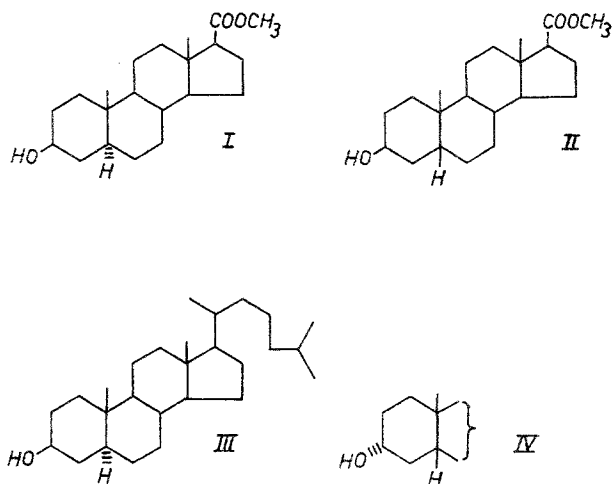
Abb. 1. Massenspektren der Verbindungen 1 und 2

Beim Vergleich der Spektren überrascht das stark unterschiedliche Intensitätsverhältnis der Spitzen des Molekülions (M/Z 334) und des Ions $M-H_2O$ (M/Z 316), sowie der Ionen der M/Z 233 und 215 [= 233-18 (H_2O)]: Im 5 β -H-Isomeren (2) ist die Eliminierung von H_2O offensichtlich ganz erheblich gegenüber 1 begünstigt. Das Intensitätsverhältnis $M-18/M$ beträgt bei 1 0,23, bei 2 jedoch 2,7. Eine thermische Dehydratisierung

* Den arabischen Zahlen zur Substanzbezeichnung entsprechen in den Abbildungen römische.

konnte bei der von uns verwendeten Direkteinführungsmethode¹ und einer Ionenquellentemperatur von etwa 70° ausgeschlossen werden.

Um diese Beobachtung deuten zu können, unterzogen wir das massenspektrometrische Verhalten von Hydroxy-steroiden einer eingehenden Untersuchung. Dies schien auch deshalb berechtigt, weil die überwiegende Zahl der natürlichen und synthetisch dargestellten Steroide eine oder meist



mehrere Hydroxylfunktionen enthält und die Beziehungen zwischen der Konstitution — und im besonderen der Konfiguration — und dem Massenspektrum (*MS*) hier bisher wenig untersucht wurden. Gerade bei Hydroxy-steroiden wären aber solche Zusammenhänge auch für die Konstitutionsbestimmung sehr wertvoll, da die anderen bei Steroiduntersuchungen verwendeten physikal. Methoden (IR, UV, ORD, OCD, NMR) im Vergleich etwa zu Keto-steroiden oder deren Derivaten (die auch massenspektrometrisch besser erschlossen sind) weniger Information liefern. Dazu kommt noch der besondere Vorteil eines äußerst geringen Substanzbedarfs für die Aufnahme eines *MS*.

Ein Grund für den Mangel an systematischen Untersuchungen in dieser Verbindungsklasse ist wohl die mit sehr geringer Flüchtigkeit verbundene hohe thermische Empfindlichkeit vieler Hydroxy-steroide, die bei den bis vor kurzem allgemein üblichen Ionenquellentemperaturen von 200° und darüber zu starken thermisch-katalytischen Dehydratisierungen und anderen Zersetzungerscheinungen führte.

Durch die Verwendung „kalter“ Ionenquellen und die direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle läßt sich diese Schwierigkeit weitgehend beseitigen, so daß wir auch von Steroiden mit mehreren OH-Gruppen (bis zu vier) ohne Überführung in Derivate noch gute Spektren erhalten konnten.

¹ G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann, *Mh. Chem.* **94**, 742 (1963).

Außerdem haben OH-Gruppen auch dann, wenn nicht besonders leicht thermische oder elektronenstoßinduzierte Dehydratisierung eintritt, infolge ihrer geringen Fähigkeit zur Stabilisierung der positiven Ladung nur ziemlich schwach dirigierenden Einfluß auf das Fragmentierungsverhalten. Die *MS* von Hydroxy-steroiden enthalten daher wie die cyclischer Kohlenwasserstoffe meist viele Bruchstücke, deren Bildung nicht in einfacher Weise deutbar ist.

Während die Bruchstückbildung bei Hydroxy-steroiden im allgemeinen nicht sehr spezifisch ist, können für die Neigung zur H_2O -Eliminierung sowohl aus dem Molekülion als auch aus Bruchstücken Regeln abgeleitet werden. Diese weichen allerdings völlig von den Gesetzmäßigkeiten der chemischen Dehydratisierung ab.

Biemann hat schon vor geraumer Zeit Unterschiede im Intensitätsverhältnis des Molekülions und des *M*—18-Fragmentes in den Spektren stereoisomerer Alkohole (vor allem von Terpenen) festgestellt². Er versuchte dies mit der höheren thermodynamischen Stabilität einer äquatorialen gegenüber einer axialen OH-Gruppe zu deuten. Kürzlich wurde über drei spezielle Fälle des Einflusses der Konfiguration von OH-Gruppen am Ring des Steroidskeletts auf die Wasserabspaltung berichtet: An tertiären 17-Carbinolen von D-Homosteroiden³, an 17-Hydroxy-6-aza-steroiden bei verschiedener Verknüpfung der Ringe C und D⁴ und an 14 β -Hydroxy-steroiden mit verschiedener Konfiguration eines 17-Substituenten mit C=O-Gruppe⁵. Im letztgenannten Fall ist der Unterschied besonders groß, da hier offenbar eine nur bei dem einen Stereoisomeren mögliche Wasserstoffbrücke stabilisierend wirkt. Schließlich konnte vor kurzem in unserem Laboratorium der starke Einfluß der sterischen Verhältnisse auf die Massenspektren von Ferrocen-carbinolen gezeigt werden⁶.

Unterschiede in der H_2O -Eliminierungstendenz

Zur näheren Prüfung der Annahme, daß axiale OH-Gruppen auch bei der Elektronenstoßionisation leichter als äquatoriale in Form von Wasser eliminiert werden², verglichen wir unter anderem die *MS* von Cholestan-3 β -ol (**3**) und Koprostan-3 α -ol (**4**), die beide eine äquatoriale OH-Gruppe enthalten und sich nur in der Verknüpfung der Ringe A und B unterscheiden. (Abb. 2).

Auch bei **3** und **4** ist das Intensitätsverhältnis *M*—18/*M* sehr verschieden, nämlich 0,01 bei **3** gegenüber 0,37 bei **4**.

² *K. Biemann* und *J. Seibl*, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 3149 (1959). Eine thermische Dehydratisierung ist unter den damals verwendeten Untersuchungsbedingungen allerdings nicht ganz auszuschließen.

³ *V. I. Zaretskii*, *N. S. Wulfson*, *V. G. Zaikin*, *S. N. Ananchenko*, *V. N. Leonov* und *I. V. Torgov*, *Tetrahedron* **21**, 2469 (1965).

⁴ *U. K. Pandit*, *W. N. Speckamp* und *H. O. Huisman*, *Tetrahedron* **21**, 1767 (1965).

⁵ *R. Tschesche*, *P. Welzel* und *H.-W. Fehlhaber*, *Tetrahedron* **21**, 1797 (1965).

⁶ *H. Egger* und *H. Falk*, *Tetrahedron Lett.* **1966**, 437.

Die Tendenz zur Dehydratisierung des Moleküls ist bei beiden Verbindungen erheblich geringer als bei den zuerst betrachteten Estern **1** und **2**, weil als Konkurrenzspaltungsreaktion die Eliminierung der Seitenkette unter Bruch des Ringes D bevorzugt ist (s. unten). Bei anderen untersuchten β -Hydroxy-Derivaten der 5α -H-Reihe mit kleineren Alkylgruppen in 17-Stellung (R=Me, Et) bleibt die Intensität der $M-18$ -Spitze ebenfalls unter 5% der von M .

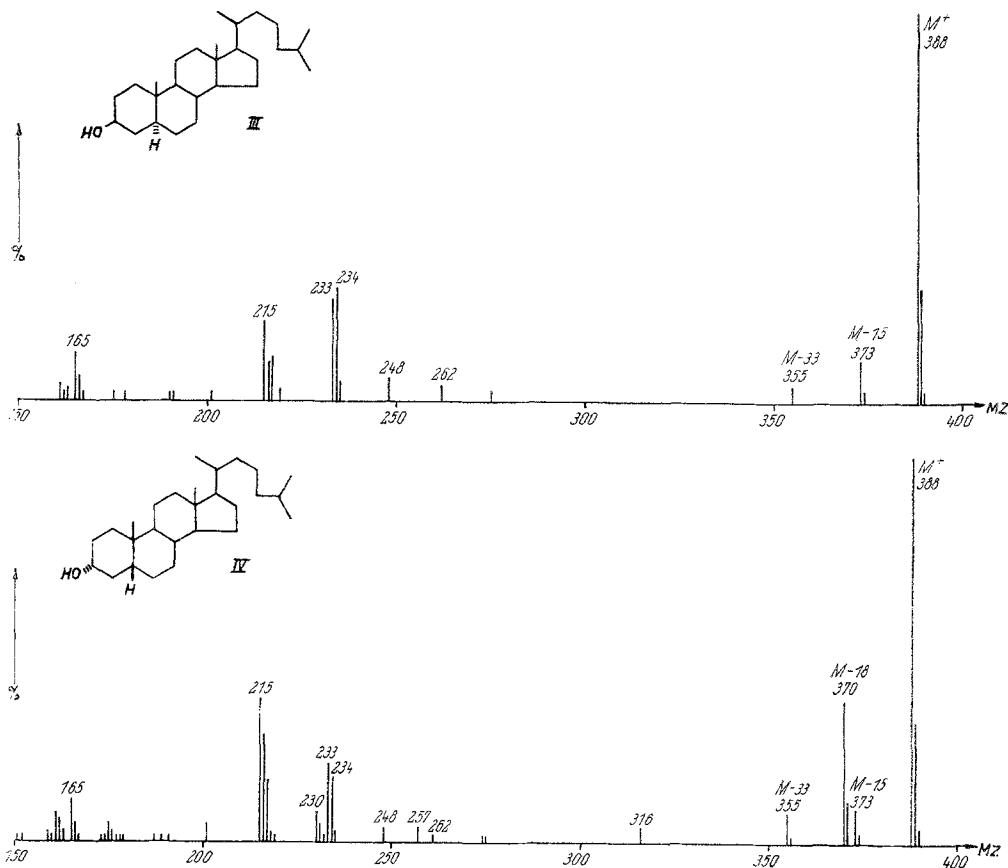


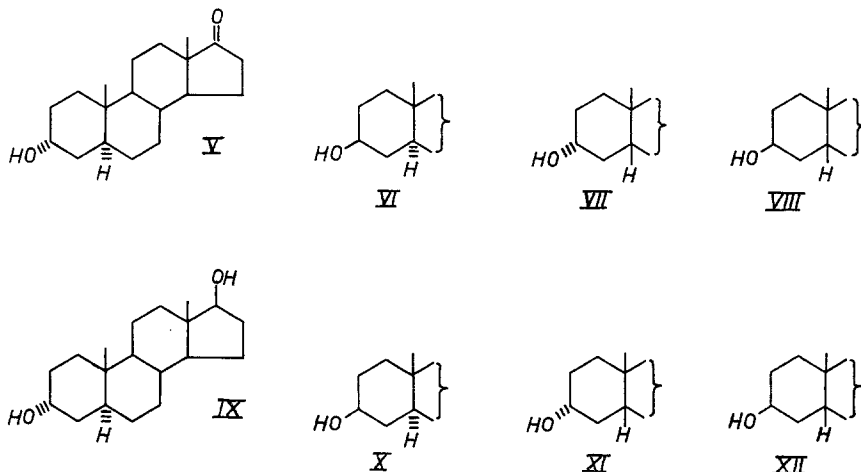
Abb. 2. Massenspektren von **3** und **4**. Die Spektren sind, wie die Mehrzahl der im folgenden dargestellten, erst ab der Massenzahl (MZ) 150 reproduziert; dies ist gerechtfertigt, da im allgemeinen bei Hydroxy-steroiden etwa von dieser MZ abwärts die Spektren wegen der vielen kleinen Bruchstücke uncharakteristisch sind

Entsprechende Unterschiede finden sich auch in den Intensitätsverhältnissen von Bruchstücken und den jeweils zugehörigen dehydratisierten Fragmenten (248/230, 234/216, 233/215; vgl. die Diskussion auf S. 598) sofern diese den Ring A enthalten.

Den entscheidenden Einfluß auf die Wasserabspaltung hat also in diesen Fällen offensichtlich die Verknüpfungsart der Ringe A und B

(*cis* oder *trans*) und nicht die axiale oder äquatoriale Stellung der OH-Gruppe.

Am klarsten sollten die Verhältnisse bei Betrachtung der Spektren aller vier möglicher Epimerer von 3-Hydroxy-steroiden sein, also 3α -OH/ 5α -H, 3β -OH/ 5α -H, 3α -OH/ 5β -H und 3β -OH/ 5β -H. Als solche standen die Androstan-3-ol-17-one **5** bis **8** und die Androstan-3,17-diole **9** bis **12** zur Verfügung.



Die Anwesenheit zusätzlicher funktioneller Gruppen in Stellung 17, die in sehr vielen Steroiden vorhanden sind, erfordert eine kurze Betrachtung über ihren Einfluß auf die Bruchstückbildung: Die 17-Keto-Gruppe ist, wie von Aufnahmen der *MS* einer größeren Zahl von verschiedenen Verbindungen abgeleitet werden konnte, allein nicht imstande das Fragmentierungsverhalten entscheidend zu bestimmen. Das geht z. B. schon aus der hohen Spitze des Molekülions und dem Überwiegen von Bruchstücken geringer Intensität in den Spektren der Ketole **5** bis **8** hervor (Abb. 4).

Es ist zwar bekannt, daß auch Steroid-ketone Anlaß zu *M*-18-Spitzen geben⁷, doch ist diese Art von Dehydratisierung hier (eine Ausnahme bilden 1-Ketone) von ziemlich geringer Bedeutung, so daß auch die davon herrührenden Spitzen bei *M*-2H₂O in den *MS* der Ketole schwach sind.

Die *MS* von 17β -Hydroxy-steroiden — im folgenden sollen nur Verbindungen mit β -ständiger 17-OH-Gruppe und *trans*-Verknüpfung der Ringe C und D diskutiert werden — zeigen, daß diese OH-Gruppe nur eine geringe Neigung besitzt, als H₂O eliminiert zu werden. Als

⁷ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Struct. Elucid. of Nat. Prod. by Mass Spectrometry*, San Francisco 1964 (Vol. II), S. 71.

Beispiel sei das *MS* von 1 β -Methyl-5 α -androstan-17 β -ol (**13**) gezeigt (die für 17 β -Hydroxyverbindungen gemeinsamen Abbauewege sollen später diskutiert werden).

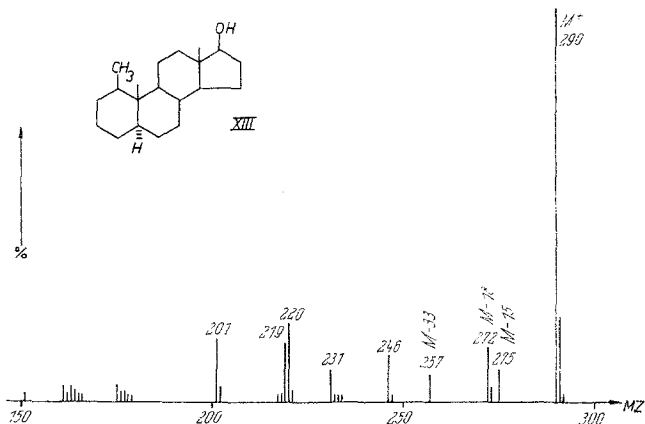


Abb. 3. Massenspektrum der Verbindung **13**

In Tab. 1 sind die Intensitäten der durch direkte Dehydratisierung des Molekülions entstandenen Ionen sowie der begleitenden kombinierten Abspaltung einer angulären Methylgruppe und von H₂O mit dem Moleküliion verglichen. Die Intensität der Molekülionen wird gleich 100% gesetzt.

Tabelle 1

		Ketole 5—8	Diöle 9—12	
		Q ₁	Q ₁	Q ₂
5 α -H (A/B- <i>trans</i>)	3 α -OH(<i>a</i>)	19%	29%	36%
	3 β -OH(<i>e</i>)	14%	17%	19%
5 β -H (A/B- <i>cis</i>)	3 α -OH(<i>e</i>)	48%	275%	505%
	3 β -OH(<i>a</i>)	43%	183%	217%

$$Q_2 = \frac{(M-18) + (M-15-18)}{M}$$

$$Q_2 = \frac{(M-18) + (M-15-18) + (M-2 \times 18) + (M-15-2 \times 18)}{M}$$

Solche Zahlenwerte sind nur mit bestimmten Einschränkungen für Vergleiche brauchbar: Zunächst sind nur mit Direkteinführungsmethoden bei gleichzeitiger Verwendung von „kalten“ Ionenquellen erhaltene Spektren verwendbar, wo eine thermisch-chemische Dehydratisierung auszuschließen ist. Auch bei dieser Aufnahmetechnik ist aber das Intensitätsverhältnis der Bruchstück- zu den Moleküliionspitzen merklich von der jeweiligen Ionenquellen-

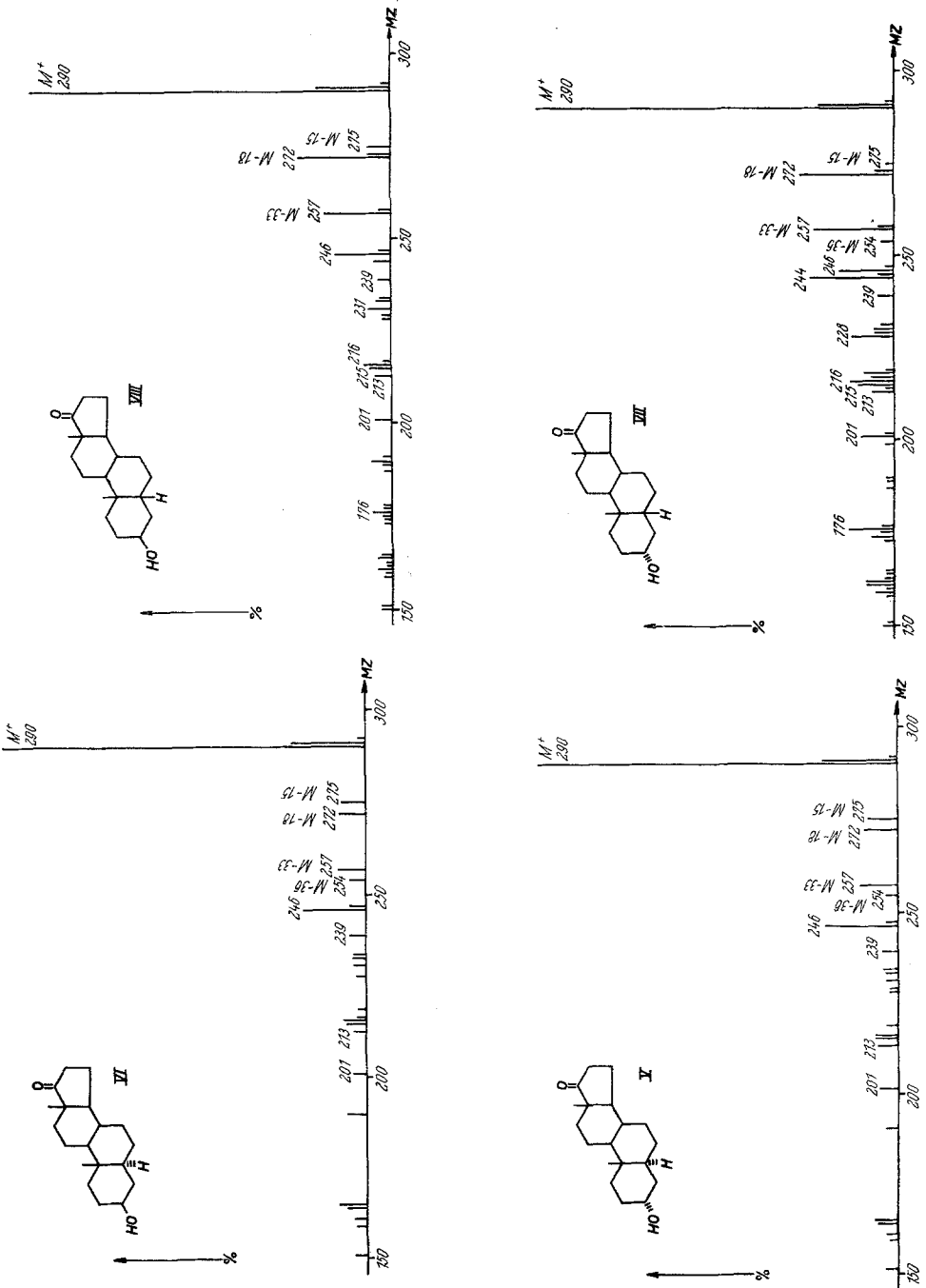


Abb. 4. Massenspektren der Verbindungen 5 bis 8

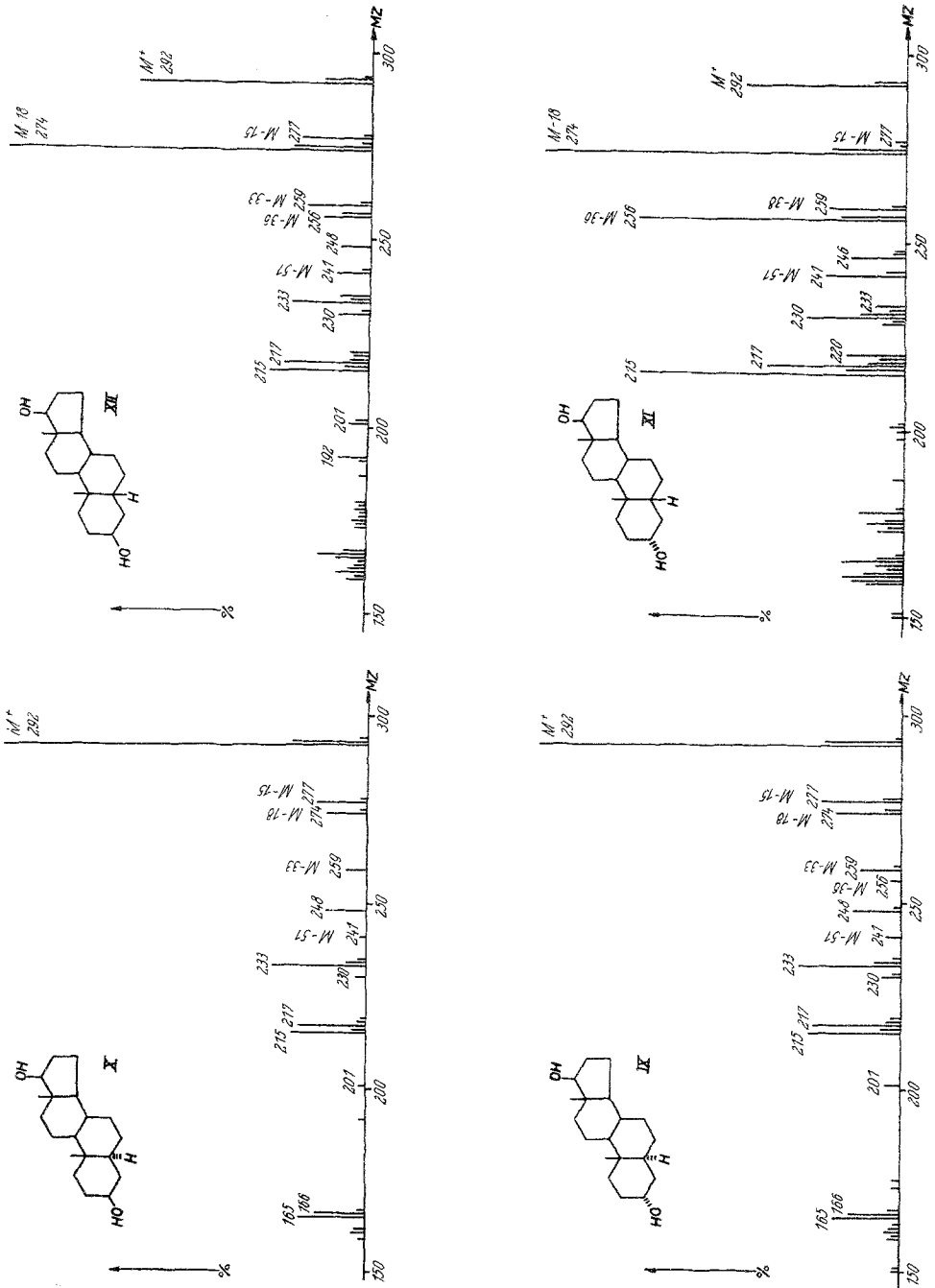


Abb. 5. Massenspektren der Verbindungen 9 bis 12

temperatur abhängig infolge verschiedener Beiträge an zusätzlicher thermischer Anregungsenergie der Moleküle, wie kürzlich an einigen Beispielen gezeigt werden konnte⁸. Die Spektren mußten daher bei gleichbleibender Ionenquellentemperatur aufgenommen werden. Außerdem sind derartige Ver-

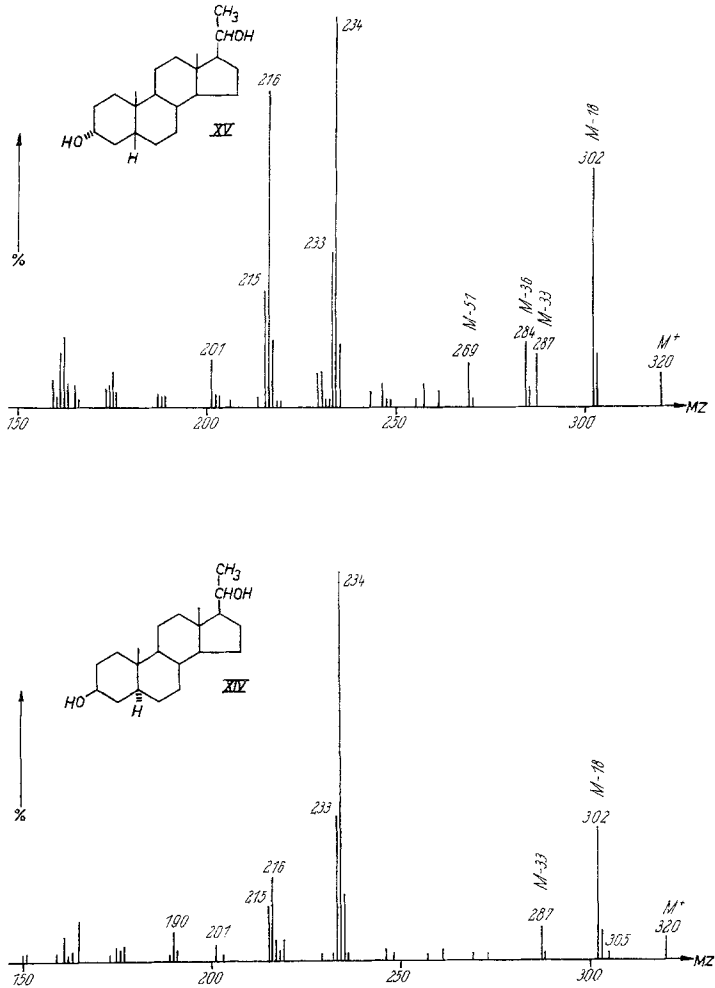


Abb. 6. Massenspektren der Pregnan-20-one **14** und **15**

gleiche nur sinnvoll, wenn sich die betreffenden Verbindungen nicht (durch Auftreten eines stark bevorzugten Abbauweges in *einem* Isomeren) wesentlich voneinander unterscheiden.

Die Werte der Tab. 1 lassen die Ringverknüpfung A/B als primär bestimmenden Faktor klar erkennen, wenn auch der Unterscheidungsgrad

⁸ M. Spiteller-Friedmann, S. Eggers und G. Spiteller, Mh. Chem. **95**, 1740 (1964).

von der Art der anderen funktionellen Gruppen abhängig ist. Die 3-Hydroxyverbindungen der 5 β -H-Reihe (A/B-*cis*) spalten in allen bisher bekannten Fällen viel leichter Wasser ab, als die 5 α -H-Derivate (Abb. 4

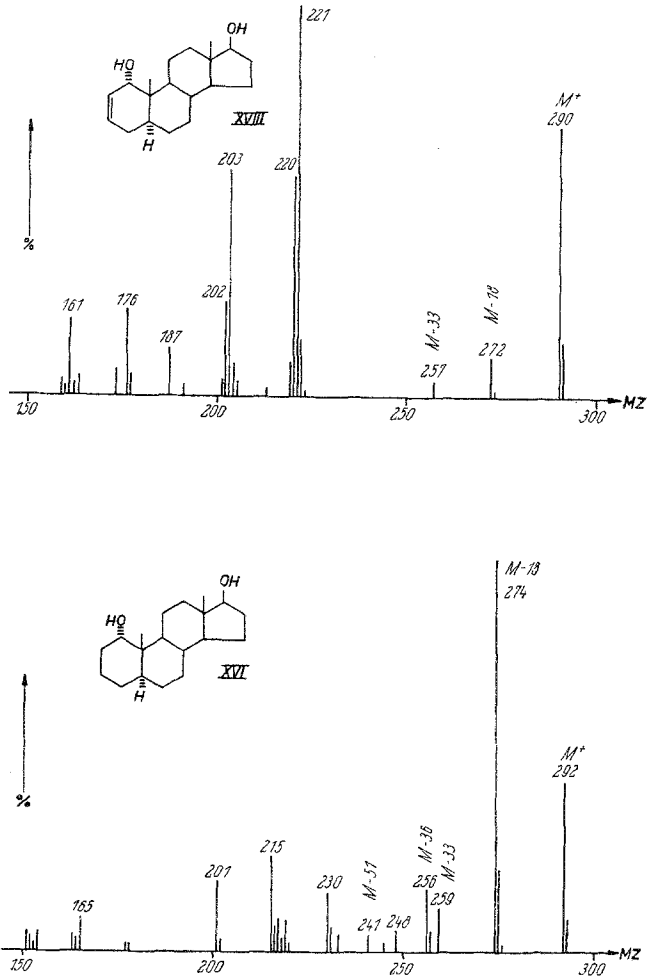
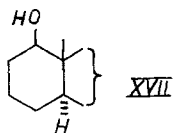
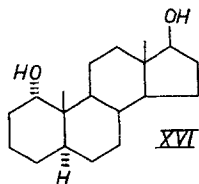
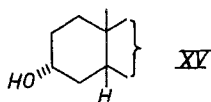
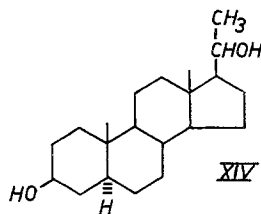


Abb. 7. Massenspektren der Verbindungen 16 und 18

und 5). Daneben sieht man bei den Diolen innerhalb einer Reihe eine merkliche (eindeutig bei den 5 β -H-Verbindungen ausgeprägte) Begünstigung der 3 α -OH-Gruppe zur H₂O-Eliminierung (obwohl diese in der 5 α -H axial, in der 5 β -H äquatorial steht!).

Dieser Unterschied ist auch erkennbar, wenn infolge eines stark begünstigten Fragmentierungsweges (z. B. Verlust von Ring D mit der Seitenkette; vgl. S. 598) nur eine Molgewichtspitze relativ geringer

Intensität resultiert. Ein Beispiel hierfür ist das Verbindungspaar **14/15**: hier ist die unterschiedliche Neigung zur Wasserabspaltung aus dem Verhältnis der Fragmente der *MZ* 216/234 ableitbar ($216 = 234 - 18$, metastabile Bande bei *MZ* 199,5). Die Werte sind für das Isomere **14** 22%, für das 5β -H-Isomere **15** 81%. Ähnliche Beziehungen gelten auch bei den anderen Verbindungen für die den Ring A und B enthaltenden Bruchstücke.

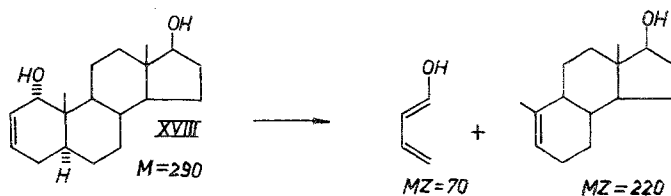


Nach den oben dargelegten Ergebnissen war es naheliegend, die in der 5β -H-Reihe beobachtbare erleichterte Eliminierung von H_2O mit dem bekannten höheren Energiegehalt des *cis*-verknüpften Ringsystemes in Zusammenhang zu bringen. Daß auch diese Erklärung nicht in allen Fällen ausreicht, bewies u. a. die Untersuchung von 1-Hydroxy-steroiden. Die *MS* der beiden 5α -Androstan-1,17-diole **16** und **17** (**16** mit 1α -OH, **17** mit 1β -OH) weisen nur Intensitätsunterschiede einzelner Spitzen auf und unterscheiden sich vor allem in ihrem H_2O -Eliminierungsverhalten nicht signifikant. Überraschenderweise wird aus ihnen ebenso leicht wie aus 3-Hydroxy-steroiden der 5β -H-Reihe Wasser eliminiert (Vergleichswerte für **16**: $Q_1 = 258\%$, $Q_2 = 305\%$).

Interessant ist das Verhalten einer 1-Hydroxy-Verbindung bei Einführung einer Doppelbindung in 2-Stellung, wie an der Verbindung **18** demonstriert ist: Neben dem dadurch ausgelösten Dienzerfall im Ring A⁹ (Spitzen beider Spaltstücke bei den *MZ* 220 und 70) und der noch stärker begünstigten Spal-

⁹ H. Audier, M. Fétizon und W. Vetter, Bull. Soc. Chim. France **1963**, 1971.

tung unter H-Umlagerung zu einem Fragment der *MZ* 221 ist die H_2O -Abspaltung stark unterdrückt.



Mechanismen der H_2O -Eliminierung

Um die H_2O -Eliminierung aus Steroidalkoholen (wobei hier zunächst nur sekundäre betrachtet werden) zu verstehen, ist eine Diskussion des Mechanismus der Wasserabspaltung im Massenspektrometer nötig: Durch Deuterierung wurde von mehreren Autoren¹⁰⁻¹² nachgewiesen, daß an der Wasserabspaltung offenkettiger Verbindungen die 1- und 2-ständigen H-Atome (wir zählen *hierbei* immer vom OH-tragenden C-Atom) nicht beteiligt sind, sondern überwiegend 1,4-Prozesse neben 1,3-Eliminierungen ablaufen. Analoge Ergebnisse erhielten *Shannon* und Mitarb.¹³ und *Budzikiiewicz, Pelah* und *Djerassi*¹⁴ an Cyclohexanolen. *Shannon* konnte überdies zeigen, daß an der Wasserabspaltung die zur OH-Gruppe *cis*-ständigen H-Atome beteiligt sind. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen konnten wir auch an Steroidalkoholen mit OH-Gruppen in 1, 3 und 17 durch Untersuchung der in Nachbarstellung zur OH-Gruppe deuterierten Verbindungen keine merkbare 1,2-Eliminierung von Wasser finden*. Formulierungen für die dehydratisierten Ionen mit Doppelbindungen wie etwa a, b, c sind daher unrichtig. Eine an sich sehr unwahrscheinliche Beteiligung des H-Atoms am OH-tragenden Kohlenstoff



a



b



c

* Die entsprechenden deuterierten Verbindungen sind in bekannter Weise durch basisch katalysierten Austausch der Ketone mit $NaOD/THF$ und nachfolgende *LAH*-Reduktion zugänglich¹⁵.

¹⁰ *W. H. McFadden, D. R. Black* und *J. W. Corse*, *J. Physic. Chem.* **67**, 1517 (1963).

¹¹ *W. Benz* und *K. Biemann*, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 2375 (1964).

¹² *S. Meyerson* und *L. C. Leitch*, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 2555 (1964).

¹³ *C. G. McDonald, J. S. Shannon* und *G. Sugowdz*, *Tetrahedron Lett.* **1963**, 807.

¹⁴ *H. Budzikiiewicz, Z. Pelah* und *C. Djerassi*, *Mh. Chem.* **95**, 158 (1964).

¹⁵ Vgl. ⁷ Vol. I, S. 19.

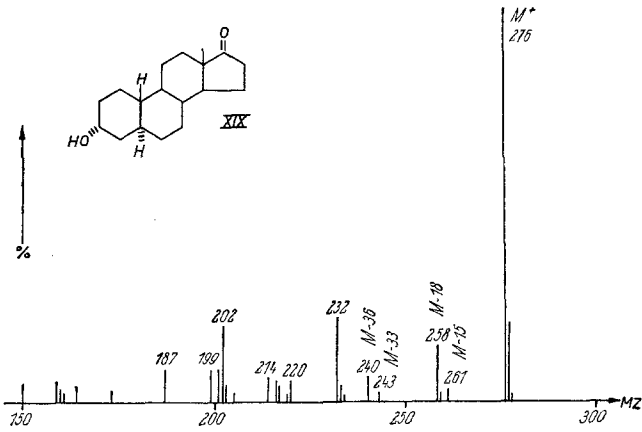
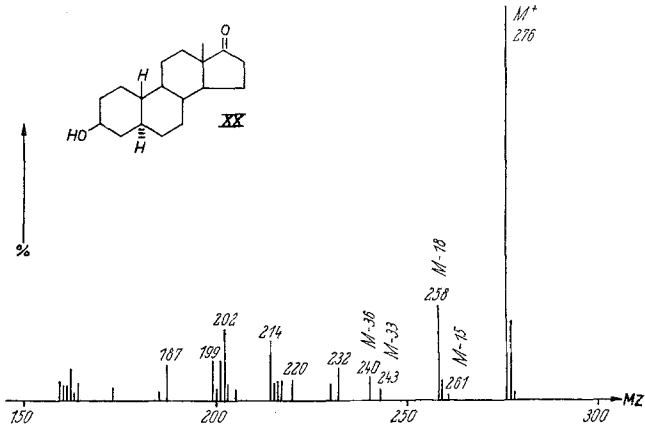


Abb. 8. Massenspektren der Ketole 19 und 20

Tabelle 2. 19-Nor-steroid

		Ketole 19, 20		Diol 21, 22, 23	
		Q ₁	Q ₁	Q ₂	Q ₂
5α-H	3α-OH	16%	35%	40%	
	3β-OH	27%	105%	124%	
5β-H	3α-OH		110%	182%	
	3β-OH				

ließ sich durch Untersuchung von Verbindungen, die die Gruppierung —CDOH— enthielten**, ausschließen.

** Sie werden durch LAD-Reduktion der Ketone hergestellt.

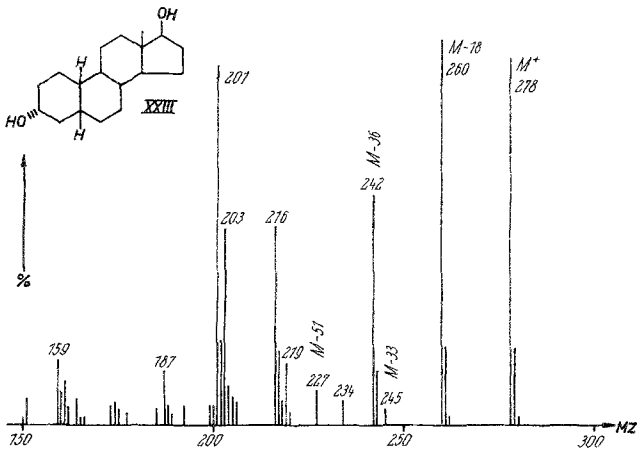
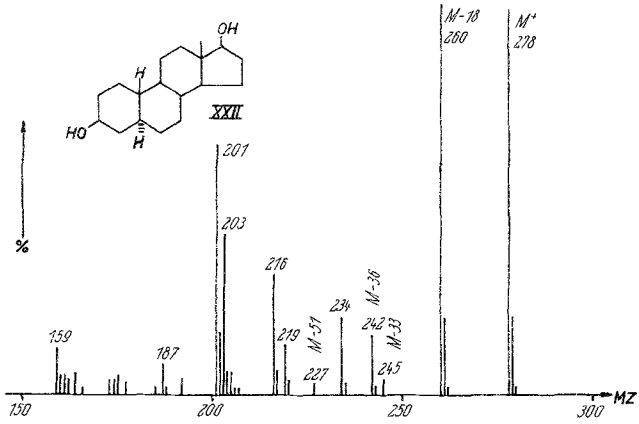
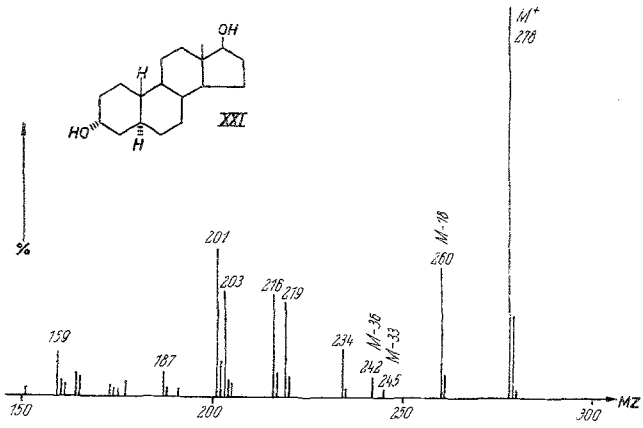
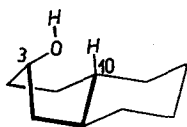


Abb. 9. Massenspektren der Diole 21 bis 23

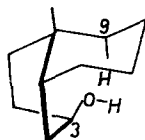
Einen wesentlichen Beitrag zu einer Klärung der Verhältnisse lieferte die Untersuchung von 3-Hydroxy-19-nor-steroiden.

Da offenbar eine am C-10 stehende Methylgruppe stärker zur Abspaltung neigt als die an C-13, ist bei 19-Nor-steroiden die Methylgruppenabspaltung stark vermindert; ferner ist der Unterschied zwischen 5α -H und 5β -H-Verbindungen viel geringer und schließlich eliminieren die 3β -OH-Epimeren eindeutig leichter H_2O als die 3α -OH, zeigen also ein genau umgekehrtes Verhalten wie die bisher besprochenen Hydroxysterioide.

Durch diese Befunde wurde eine bevorzugte Beteiligung des angulären 10β -H an der H_2O -Eliminierung von 3-Hydroxy-19-nor-steroiden sehr wahrscheinlich gemacht. Da dieser Wasserstoff die bei Cyclohexanolen^{13, 14} zur H_2O -Eliminierung günstigste 4-Position (relativ zur OH-Gruppe) einnimmt, ist das Verhalten verständlich. In den gewöhnlichen Steroiden ist diese Stellung durch die Methylgruppe blockiert. Nimmt man nun den von *Shannon*¹⁸ vorgeschlagenen, über eine Wannenförmig verlaufenden Mechanismus an, dann ist auch die Begünstigung der β -OH-Epimeren verständlich, da hier die OH-Gruppe die günstige *cis*-Stellung zum H-10 einnimmt:



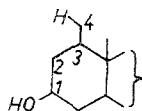
Betrachtungen an *Dreiding*-Modellen zeigen, daß auch für normale 3-Hydroxy-sterioide bei einer *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B ein tertiärer Wasserstoff in einer Position mit ähnlich günstigen Abstandsverhältnissen zur OH-Gruppe existiert, nämlich das anguläre 9α -H-Atom, wenn der Ring A in einer der beiden Wannenförmigen vorliegt:



Daraus folgt zwanglos eine Bevorzugung der Wassereliminierung in 3α -OH-Steroiden (*cis* zu 9α -H), wie sie hier beobachtet wird (vgl. Tab. 1). Da eine ähnliche geeignete Konformation bei A/B-*trans*-Verknüpfung nicht möglich ist, läßt sich mit dieser Vorstellung der wesentliche Unterschied im Verhalten von 3-Hydroxy- 5α -H- und - 5β -H-Steroiden und das davon abweichende Verhalten von 19-Nor-steroiden

interpretieren. Durch Deuterierung in Stellung 9 wäre vielleicht eine Überprüfung dieser Vorstellung möglich.

Für die Isomeren, in denen sterisch besonders günstig liegende H-Atome nicht vorhanden sind, müssen offenbar noch andere Mechanismen der Dehydratisierung möglich sein. Zunächst ist wie bei Cyclohexanolen ein 1,3-Mechanismus in Betracht zu ziehen, der aber doch nicht für eine Erklärung ausreichen dürfte. Bei den mit Methyl 1-mono- und 1,1-disubstituierten 3-Hydroxy-5 α -H-steroiden ist nämlich durchweg eine leichtere Dehydratisierung als bei den vergleichbaren unsubstituierten Verbindungen zu beobachten, was aber auch auf der Beteiligung eines H-Atoms des Methyl-Substituenten beruhen könnte (1,4-Mechanismus möglich).



Beispiele hierfür sind die Verbindungen **24**, **25**, **26**, die auch wegen ihres abweichenden Fragmentierungsverhaltens Interesse verdienen.

Die $M-18/M$ -Verhältnisse erlauben einen groben Vergleich.

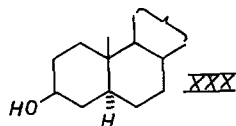
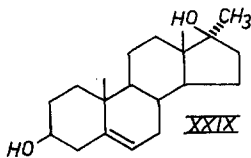
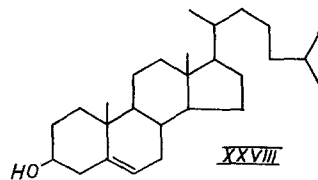
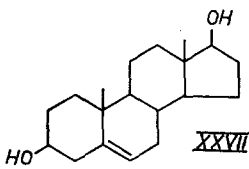
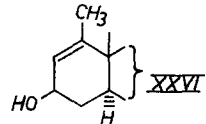
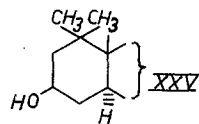
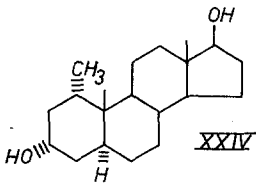
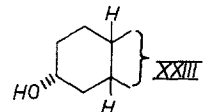
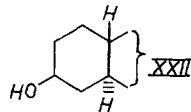
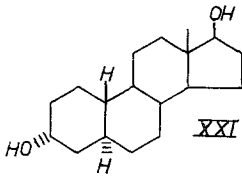
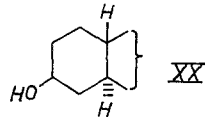
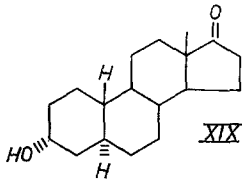
Entsprechende Verb. in 1 unsubstituiert:	3 β -OH: 11% (9)
	3 α -OH: 18% (10)
(In allen Verbindungen 5 α -H und 17 β -OH)	1 α -Methyl-3 α -OH: 33% (24)
	1,1-Dimethyl-3 β -OH: 44% (25)
	1-Methyl- Δ^1 -3 β -OH: 27% (26)

Eine 5,6-Doppelbindung bewirkt gleichfalls erleichterte Wasserabspaltung. In diesen Verbindungen fehlt das H an C-Atom 5, das bei einem 1,3-Mechanismus beteiligt wäre.

Δ^5 -Androsten-3 β ,17 β -diol:	36% (27) (Vgl. mit 9 und 10)
Cholesterin:	19% (28) (Vgl. mit 3)
17 α -Methyl- Δ^5 -androsten-3 β ,17 β -diol:	38% (29) (Vgl. mit 30)
17 α -Methyl-5 α -androstan-3 β ,17 β -diol:	21% (30).

Die $M-18$ -Spitzen sind also hier etwas höher als in den vergleichbaren 5 α -H-Verbindungen, aber doch erheblich schwächer als in den analogen 5 β -H-Verbindungen.

Bei Betrachtung des gesamten Materials ist auch ein H_2O -Eliminierungsmechanismus nach vorhergehender Ringöffnung (Spaltung an einer der vom hydroxyl-substituierten C-Atom ausgehenden Bindungen) durchaus wahrscheinlich. Ein ähnlicher Mechanismus der H_2O -Abspaltung wird auch für Cyclohexanol auf Grund der Deuterierungsergebnisse angenommen¹⁴. Dabei ist eine ziemlich regellose Beteiligung von H-Atomen infolge der erreichten Beweglichkeit des Kettenendes zu erwarten.



Dieser Mechanismus wäre dann mit unterschiedlichem Anteil in allen Fällen wenigstens zusätzlich wirksam. Eine Ringöffnung kann durch

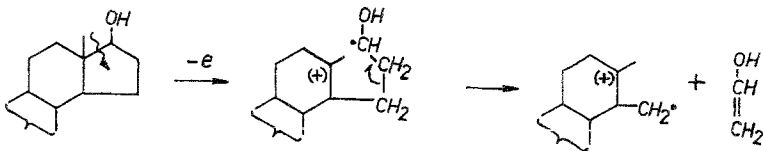
eine allylständige Doppelbindung oder besonders bei 1-OH-Verbindungen durch das benachbarte quartäre C-Atom begünstigt werden (vgl. S. 599). Eine eindeutige Klärung der Verhältnisse könnte nur eine Untersuchung von entsprechend deuterierten Verbindungen bringen.



Allgemeines Fragmentierungsverhalten von Hydroxy-steroiden

Während in den vorangehenden Abschnitten im wesentlichen nur die Bildung von Ionen erörtert wurde, die ohne Abbau des Steroidskelettes entstehen, sollen in diesem Kapitel die bei den untersuchten Verbindungen beobachteten gemeinsamen Skelettfragmentierungen von Hydroxy-steroiden diskutiert werden. Für die Zuordnung leisteten deuterierte Verbindungen und „Markierung“ mit Substituenten (z. B. Methyl) wichtige Beiträge. Die hier abgeleiteten gemeinsamen Zerfallsreaktionen lassen sich allerdings nicht auf Verbindungen übertragen, die die Bruchstückbildung besonders stark beeinflussen, wie etwa Ketal- oder Amino-gruppen.

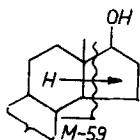
Betrachtet man zunächst die Spektren der untersuchten 3,17-Diole, so erkennt man, daß Spaltungsreaktionen bevorzugt am Ring D einsetzen, da die im Ring A deuterierten Verbindungen das Deuterium in den meisten Bruchstücken noch enthalten, während in 16 und 17 markierte Verbindungen deuteriumfreie Bruchstücke liefern. Als wichtiges Fragment im höheren Massenbereich tritt oft ein Ion bei $M-44$ (= 248) bzw. $M-(44 + 18)$ auf, das im Spektrum der 17- d_1 und der 16- d_2 -Verbindung unverschoben ist, also durch Eliminierung dieser beiden C-Atome als C_2H_4O entsteht.



Eine Stabilisierung des primären Radikalions zu einem tertiären durch H-Wanderung ist als wahrscheinlich anzunehmen. Das Bruchstück erreicht zwar nur mittlere Intensität, kann aber, weil es durch Strukturvariation in den Ringen A und B hervorgerufene Verschiebungen anzeigt, für Konstitutionsbestimmungen nützlich sein. Das entsprechende de-

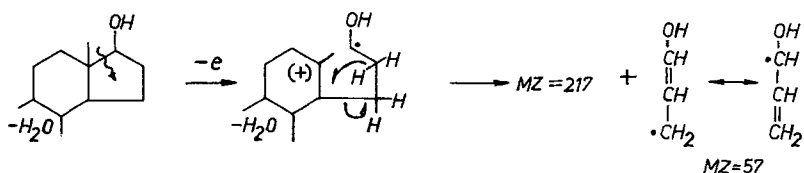
hydratisierte Ion von 3-Hydroxyverbindungen liegt bei der *MZ* 230 (bei 19-Nor-steroiden findet sich die zum Übergang 234 → 216 gehörige metastabile Bande bei *MZ* 199,5).

Eine Spitze bei *M*—59 (*M*—C₃H₇O, *MZ* 233 in 3,17-Diolen) ist der für viele 17-substituierte Steroide charakteristischen Abspaltung des Ringes D mit der Seitenkette zuzuordnen. Wahrscheinlich entsteht dieses Fragment über das um eine Masseneinheit schwerere Ion, das durch Verringerung der Elektronenenergie und der Ionenquellentemperatur als „massenspektrometrisches Zwischenabbauprodukt“ faßbar ist^{16, 17} und auch oft als Hauptfragment erhalten wird, wenn das Spektrum mit üblicher Elektronenenergie aufgenommen wurde.



Das so gebildete Ion kann je nach den sterischen Verhältnissen der OH-Gruppe im Ring A mehr oder weniger leicht H₂O eliminieren.

Ein Bruchstück der *MZ* 217 entspricht bei 3,17-Diolen der Abspaltung von 75 Masseneinheiten. Es bleibt in den 17-*d*₁-Verbindungen unverschoben, ist in den 19-Nor-Verbindungen zur *MZ* 203 und in der 16-*d*₂-Verbindung um nur eine *ME* zur *MZ* 218 verschoben. Für das eliminierte Teilchen kommen als Summenformeln C₄H₉ + H₂O oder C₃H₇O₂ = C₃H₅O + H₂O in Frage. Ähnliche Spaltungsreaktionen, allerdings in geringem Ausmaß, laufen in 17-alkylsubstituierten Steroiden ab. Daher dürfte diesem Verlust eine H₂O-Eliminierung aus dem Ring A und die Abspaltung des Ringes D als allyl-stabilisiertes Radikal der *MZ* 57 (·CH₂—CH = CH—OH) entsprechen, wobei ein H von C-16 an das Restmolekül wandern müßte.



17-Keto-steroiden liefern überraschenderweise ebenfalls *M*—44-Spitzen¹⁸. Auf Grund eines Hochauflösungs-*MS* von 3 α -Acetoxy-5 α -androstanon-17¹⁹ entspricht dieser (durch metastabile Banden als Ein-

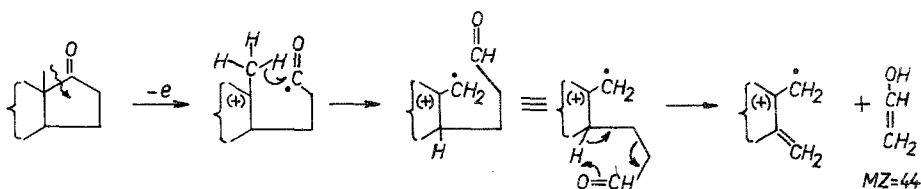
¹⁶ Unveröffentlichte Ergebnisse aus unserem Laboratorium.

¹⁷ G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann, Ann. Chem. **690**, 1 (1965).

¹⁸ H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **84**, 1430 (1962).

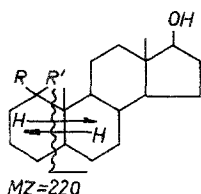
¹⁹ K. Biemann, P. Bommer und D. M. Desiderio, Tetrahedron Lett. **1964**, 1725.

stufenprozeß charakterisierte) Übergang der Abspaltung von C_2H_4O . Da im Spektrum eines 16- d_2 -Ketons die entsprechende Spitze unverschoben bleibt, müssen offenbar noch *zwei* zusätzliche H-Atome auf das abgespaltene Teilchen übertragen werden. Unter der Annahme einer Primärsplattung der 13—17-Bindung und einer wegen der dadurch erhöhten Beweglichkeit der $C=O$ -Gruppe begünstigten *McLafferty*-Umlagerung läßt sich in Anlehnung an eine Arbeit von *Djerassi* und Mitarb.²⁰ folgender Mechanismus formulieren:



Während mit der Annahme einer *McLafferty*-Umlagerung infolge des spezifischen Sechszentrenmechanismus die Beteiligung des H-14 gegeben erscheint, wäre die tatsächliche Herkunft des zusätzlich übertragenen Wasserstoffs nur durch Deuterierungen zu klären.

Die Einführung von Substituenten in 1-Stellung des Steroidgerüsts führt zu einer auffallend erhöhten Tendenz zur Bruchstückbildung im Ring A, wobei überwiegend die C-Atome 1—4 eliminiert werden. Der Grund ist wohl in einer Erleichterung der primär erfolgenden Spaltung der 1—10-Bindung zu suchen. Bei den untersuchten Verbindungen, die alle neben verschiedenen Substituenten im Ring A noch eine 17β -OH-Gruppe enthielten, entsteht durch diese Spaltung ein Fragment der *MZ* 220.



Die hier unterhalb der *MZ* 220 auftretenden Ionen sind nun von der Art der funktionellen Gruppen im Ring A erstaunlich wenig abhängig; es handelt sich also im wesentlichen um die weitere Fragmentierung der Ringe B, C, D. Als charakteristisches Beispiel sei das *MS* von 1-Methyl- Δ^1 -5 α -androst-3 β ,17 β -diol (**26**) angeführt.

²⁰ E. Lund, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **85**, 941 (1963).

Die weiteren Spitzen lassen sich folgendermaßen interpretieren: $205 = 220 - \text{CH}_3$, $202 = 220 - \text{H}_2\text{O}^*$, $187 = 202 - \text{CH}_3^*$, $176 = 220 - \text{C}_2\text{H}_4\text{O}^*$, $161 = 220 - 59$ (vgl. S. 598). Obwohl das Bruchstück der MZ 220 ohne Nettoübertragung von H entsteht, weist eine überwiegende Verschiebung auf MZ 221 in der $3-d_1$ -Verbindung von **25** auf einen

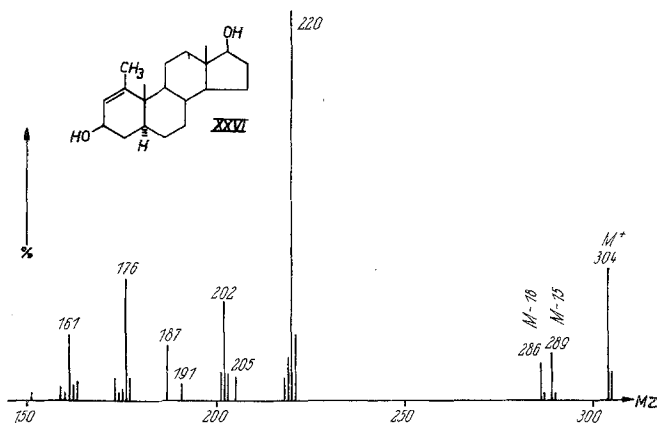
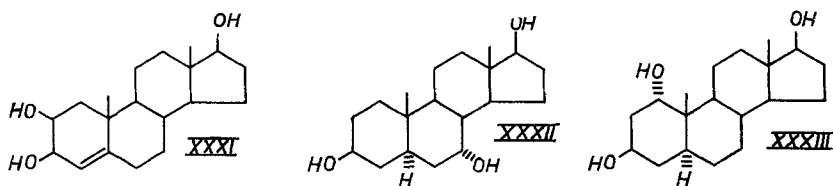


Abb. 10. Massenspektrum der Verbindung **26**

komplizierten Mechanismus mit H-Verschiebungen in beiden Richtungen hin, wie er schon in anderen Fällen nachgewiesen wurde²¹. Da ein einfacher Dienzerfall, wie er nur bei Δ^2 -Steroiden möglich ist⁹, ebenfalls ein Bruchstück bei der gleichen MZ (220) liefert, ist bei Heranziehung dieses Fragmentes zu Konstitutionsermittlungen große Vorsicht nötig. Ein im Bereich der MZ 150 bis 200 sehr ähnliches Fragmentierungsmuster zeigen u. a. die Verbindungen **18**, **24**, **25** und **26**.



Wie groß häufig die Unterschiede der MS von stellungsisomeren Hydroxy-steroiden sind, soll am Beispiel von Triolen erwähnt werden. Während in Δ^4 -Androsten- $2\beta,3\beta,17\beta$ -triol (**31**) die Stabilität des Molekülions so hoch ist, daß oberhalb der MZ 100 die Intensität keines Bruch-

* Metastabile Spitzen zuzuordnen.

²¹ H. Powell, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 2623 (1964).

stückes 10% des Moleküls überschreitet (Wasserstoffbrückenstabilisierung?), liefert im 5 α -Androstan-3 β ,7 α ,17 β -triol (**32**) $M-H_2O$ die Basis Spitze bei allgemein viel stärkerer Fragmentierung (Hauptbruchstück bei der MZ 178). In der isomeren Verbindung **33** hingegen ist $M-2 H_2O$ die Basisspitze und die Bruchstückbildung wieder völlig anders. Hier sind daher noch eingehende Studien nötig, ehe Aussagen allgemeinerer Gültigkeit möglich werden.

Alle Massenspektren wurden mit einem Atlas-CH 4-Massenspektrometer in der früher beschriebenen Weise¹ bei einer Elektronenenergie von 70 eV und Ionenquellentemperaturen zwischen 70 und 90° C aufgenommen.

Für die Überlassung der Substanzen sind wir Herrn Dr. *R. Wiechert* (Schering A. G., Berlin) zu großem Dank verpflichtet. Das Massenspektrometer wurde vom Österreichischen Forschungsrat zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle danken.