

Ring-A-Fragmentierung von 4,4-Dimethyl- Δ^2 -Steroiden¹

Massenspektroskopische Fragmentierungsreaktionen,
12. Mitt.

Von

Elmar Flaskamp, Hans-Joachim Kesterke und Herbert Budzikiewicz

Institut für Organische Chemie, Universität zu Köln,
Bundesrepublik Deutschland

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 2. April 1976)

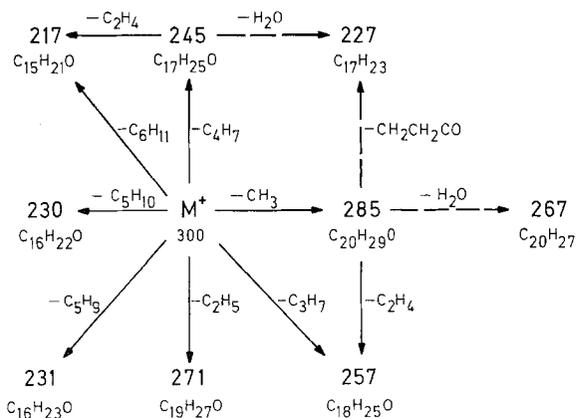
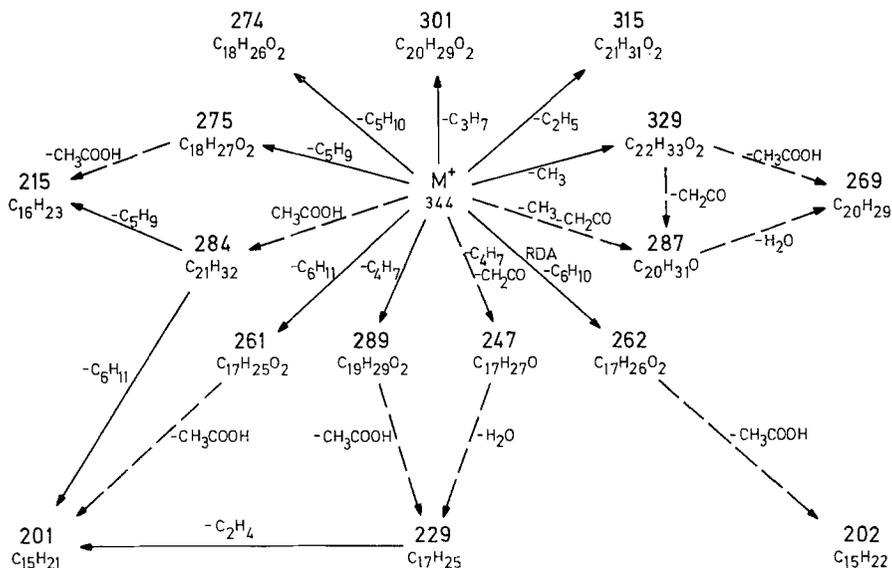
*Mass Spectroscopic Fragmentation Reactions XII: Ring A
Fragmentation of 4,4-Dimethyl- Δ^2 -Steroids*

4,4-Dimethyl- Δ^2 -steroids show besides *RDA*-decomposition degradation of ring *A* in a characteristic manner by elimination of alkyl and alkenyl fragments (C_1 – C_6).

Einleitung

Bei unseren Untersuchungen zur Theorie des quasithermischen Retro-Diels—Alder-Zerfalls (*RDA*) an 4,4-Dimethyl-androst-2-en-Systemen² war aufgefallen, daß diese Verbindungen überwiegend Zerfallsprozesse des Ringes *A* zeigen. Die Einführung eines zusätzlichen alkylsubstit. Kohlenstoffatoms, dessen Isomerisierungsmöglichkeiten durch seine Allylstellung noch begünstigt werden, gibt offensichtlich Anlaß zu bisher bei Steroiden nicht beobachteten Fragmentierungen, mit denen die sonst dominierende Ring-*D*-Spaltung³ nicht konkurrieren kann. Über diese Zerfallsreaktionen soll nunmehr berichtet werden.

Die Massenspektren — als Beispiele wurden 4,4-Dimethyl-5 α -androst-2-en-17-on und die entsprechende 17-Acetoxyverbindung gewählt — sind im oberen Massenbereich durch Ionen gekennzeichnet, die durch Abspaltung von Kohlenwasserstoff-Fragmenten (CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , C_4H_7 , C_5H_9 , C_5H_{10} , C_6H_{10} , C_6H_{11}) aus Ring *A* entstanden sind. Besonders augenfällig kommen diese Ionen im Massenspektrum des 17-Ketons zum Ausdruck, da sie bei der 17-Acetoxyverbindung im oberen Massenbereich durch die Esterfragmentierungen überlagert werden. In den beiden Diagrammen sind dementsprechend die Ring-

Diagramm 1. Zerfall von 4,4-Dimethyl-5 α -androst-2-en-17-on (1)Diagramm 2. Zerfall von 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en (2)

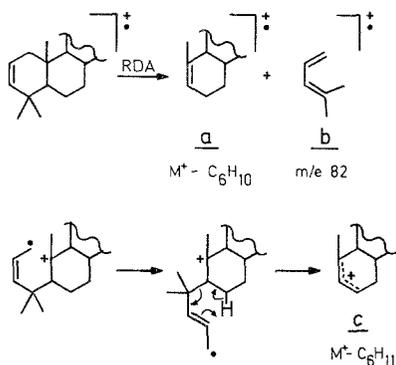
D-Fragmente gestrichelt wiedergegeben. Bei den deuterierten Verbindungen war es nur notwendig, 17-Acetoxy-4,4-bistrideuteromethyl-5 α -androst-2-en in das 17-Keton überzuführen, da im Massenspektrum des ersteren die Abspaltungen der C_5 -Einheiten völlig in Acetatfragmentierungen untergehen. Die Verschiebungen in den Spektren der rest-

lichen deuterierten 17-Acetoxy-Verbindungen waren eindeutig zuzuordnen; wir verzichteten deshalb auf die Darstellung der entsprechenden 17-Ketone.

Zerfallssequenzen wurden durch m^* nach der Defokussierungsmethode bestimmt, angegebene Elementarzusammensetzungen von Ionen durch exakte Massenmessungen gesichert.

Diskussion der Ergebnisse

Der Verlust von CH_3^{\cdot} und $\text{C}_2\text{H}_5^{\cdot}$ verläuft unspezifisch. In beiden Fällen wird eine der beiden Methylgruppen an C-4 z. T. verloren. Klarer und charakteristischer sind die Abspaltungen höherer Kohlenwasserstoff-Fragmente, wobei in jedem Fall die Methylgruppen an C-4 eindeutig beteiligt sind. Die C_6 -Bruchstücke entstehen wie erwartet: *RDA*-Zerfall liefert die Ionen **a** und **b**; früheren Untersuchungen entsprechend verbleibt die Ladung bevorzugt bei **b**^{2, 4, 5}. Verlust von C-1—C-4 unter Abspaltung eines weiteren H — vermutlich von C-6 — führt zu **c**.



Die C_3H_7 -Abspaltung erfolgt zum überwiegenden Teil durch Verlust von C-4 mit den beiden Methylgruppen und (zu über 50%) des H vom C-3 (ein kleinerer Teil entsteht durch Äthyleneliminierung aus $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$). Mechanistisch kann dies nur über eine Ringkontraktion erfolgen:

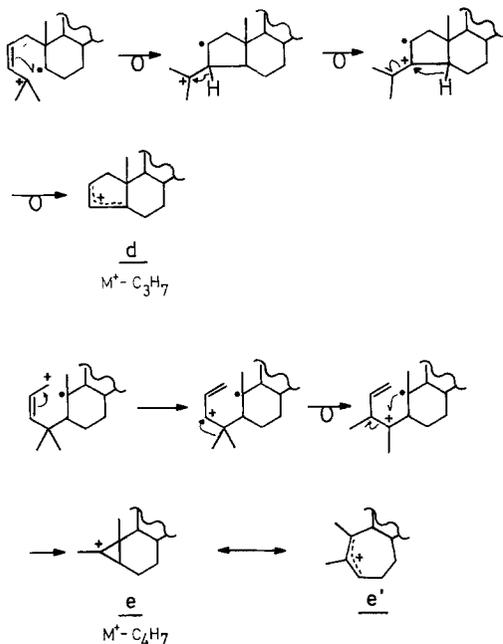
$[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7]^+$ ist ein Eichpeak für die Einheitlichkeit der Substanz: Höhere Intensität deutet darauf hin, daß das umgelagerte Fünfringsystem als isomere Verunreinigung^{8, 9} der Probe beigemischt ist (z. B. ²).

Verlust eines C_4H_7 -Radikales ist der charakteristischste Prozeß, der überdies einheitlich verläuft. Da nur eine der CH_3 -Gruppen von C-4

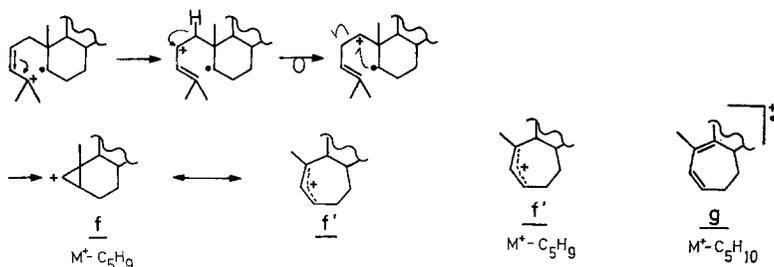
verloren wird, muß der Eliminierung eine Methylwanderung vorausgehen.

Nach gleichem Schema führt Wasserstoffwanderung zu dem weniger intensiven Verlust von C_5H_9 :

Unerklärt hingegen bleibt die C_5H_{10} -Abspaltung. Die Markierungen deuten darauf hin, daß die gleichen Molekülteile verloren werden wie



bei der C_5H_9 -Eliminierung. Ein Fragmentierungsmechanismus läßt sich jedoch nicht ohne Spekulation erstellen. Wir beschränken uns deshalb darauf, eine mögliche Ionenstruktur anzugeben, die den Fakten gerecht wird (g).



Danksagung

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchten wir für das zur Verfügung gestellte Massenspektrometer mit Datensystem, dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung, Herrn Doz. Dr. H. Vorbrüggen, Schering AG, Berlin, für wertvolle Ausgangssubstanzen bestens danken.

Untersuchte Verbindungen

4,4-Dimethyl-5 α -androst-2-en-17-on	(1)
17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en	(2)
17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en-2- d_1	(3)
17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en-3- d_1	(4)
17 β -Acetoxy-4,4-bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en	(5)
4,4-Bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en-17-on	(6)

Tabelle 1. Beobachtete Massenverschiebungen

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
M^+	—	—	+	+	+	+
—CH ₃	—	—	+	+	±	±
—C ₂ H ₅	—	—	±	±	±	±
—C ₃ H ₇	—	—	±	±	—	—
—C ₄ H ₇	—	—	—	—	(+)	(+)
—C ₅ H ₉	—	—	—	?	?	—*
—C ₅ H ₁₀	—	—	—	?	?	—*
—C ₆ H ₁₀	—	—	—	—	—	—
—C ₆ H ₁₁	—	—	—	—	—	—

— = Nicht verschoben; + = quantitativ verschoben; ± = teilweise verschoben; (+) = um 3 u verschoben; ? = unklar.

* m/e 230 und 231 sind von einer Wasserabspaltung überlagert (248 \rightarrow 230); durch Hochauflösung konnten die gesuchten Fragmente jedoch nachgewiesen werden.

Experimenteller Teil

Die NMR-Spektren wurden mit dem Gerät A-60 der Fa. Varian, Palo Alto (CDCl₃, TMS), die Massenspektren mit dem Gerät MAT 731 der Fa. Varian MAT, Bremen, gemessen. Exakte Massenmessungen erfolgten nach der „Peak matching-Methode“, alle Werte liegen innerhalb $\pm 2,5$ ppm.

Darstellung der Verbindungen

Ausgangsmaterial für die 4,4-Dimethyl-2-en-Verbindungen sollte 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3-on sein, das auch entsprechende *D*-Markierung zuläßt. Dieses ist in der Literatur zwar schon beschrieben^{6,7}, bei seiner Herstellung sind jedoch unerwartete Schwierigkeiten aufgetreten:

Methylierung von Testosteron mit Methyljodid (Methyljodid-*d*₃)/*K*-*tert*-butanolat in *tert*-Butanol lieferte, wie beschrieben⁶, 17 β -Hydroxy-4,4-dimethyl-androst-5-en-3-on. Die nun folgende Hydrierung der Doppelbindung erwies sich jedoch als der kritische Schritt. *Ringold* und *Rosenkranz* verwendeten 10proz. Pd/C (50 Gew%, in Methanol) und erhielten das gesuchte 5 α -verknüpfte Androstanon⁶. Nacharbeiten der Vorschrift führte jedoch stets zu höher reduzierten Verbindungen (4,4-Dimethyl-5 α -androst-3 β ,17 β -diol und 3 ξ -Methoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-17 β -ol). *Schlatter*, *Lüthy* und *Graf* setzten die 17-Acetoxy-Verbindung ein und erhielten ein annähernd äquimolares Gemisch der 5 α - und 5 β -isomeren 3-Ketone neben der 3-Hydroxy-Verbindung und unhydriertem Ausgangsmaterial⁷. Bei Wiederholung dieser Versuche konnten wir auch hier nur die oben beschriebenen, höher reduzierten Verbindungen isolieren. Von beiden Arbeitsgruppen war mit erheblichem Katalysatorüberschuß gearbeitet worden, worauf wohl u. a. die unerwünschten Nebenreaktionen zurückzuführen sind. Bei unseren Versuchen wurde stets die Ketofunktion angegriffen, andererseits aber schien die so entstandene 3 β -OH-Funktion eine stereoselektive Hydrierung der 5,6-Doppelbindung zur Folge zu haben, denn wir konnten keinerlei 5 β -Produkte isolieren.

Hydrierung von 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-androst-5-en-3 β -ol sollte deshalb unter geeigneten Bedingungen ausschließlich zum 5 α -Steroid führen und die Acetatfunktion bei geringerem Katalysatorüberschuß intakt lassen. Die Ergebnisse (Reduzierung der Katalysatormenge auf 5—10 Gew%; Arbeiten in annähernd gesätt. methanol. Lösung) bestätigen die Erwartungen: Reaktionsprodukt war das gewünschte 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3 β -ol, das nach üblichen Methoden zum 3-Keton reoxidiert wurde.

Hydrierung von 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-androst-5-en-3-on zu 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3 β -ol ist auch in *einem* Schritt möglich, wenn man PtO₂ in Essigsäure/Äthylacetat 6:1 verwendet. Nach Vorhydrierung des Katalysators wird schnell 1 Äquivalent H₂ aufgenommen (Reduktion der Ketofunktion), dann folgt etwas schleppend die Hydrierung der Δ^5 -Doppelbindung stereoselektiv zum 5 α -Androstan-Gerüst. Diese Methode ist jedoch nur für kleine Ansätze geeignet, da größere Mengen Pt-Mohr sich leicht zusammenballen. Der dadurch bedingte Verlust an aktiver Oberfläche führt, wenn man nicht mehrmals frischen Katalysator zusetzt, zu nicht quantitativer Hydrierung.

Die Darstellung der Δ^2 -Verbindung konnte nicht durch die gängigen Eliminierungsreaktionen (Abspaltung von *Tos*OH aus dem entsprechenden 3 β -Tosylat; Umsetzung des 3 β -Alkohols mit SOCl₂/Pyridin) erfolgen, da bei ähnlichen 4,4-Dimethylverbindungen eine Vielzahl von Umlagerungen, die u. a. zu Ringkontraktionen führen, beschrieben worden sind^{8,9}. Diese können umgangen werden durch Einwirkung^{10,11} von Zink/Eisessig auf das Halogenhydrin, welches durch α -Bromierung von 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3-on und Reduktion der Ketofunktion mit NaBH₄ (NaBD₄) erhalten wird und das gewünschte 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en liefert, das durch Spaltung der Esterfunktion

mit LiAlH_4 und Oxidation in die entsprechende 17-Ketoverbindung übergeführt werden kann.

Die Wege zur D-Markierung in 3- und 4'-Position sind bereits aufgezeigt worden, die 2-Position ist durch basenkatalysierten Austausch aus dem 3-Keton zugänglich.

17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androstan-3 β -ol

Testosteron wird, wie beschrieben^{6, 7}, methyliert und mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert. 5 g des so entstandenen 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-androst-5-en-3-on werden in 200 ml Methanol gelöst und portionsweise mit insgesamt 1 g NaBH_4 versetzt. Nach 3 Stdn. Reaktionsdauer (Raumtemp.) wird vorsichtig mit 1 ml Eisessig zersetzt, das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in CHCl_3 aufgenommen, mit Wasser ausgeschüttelt, über Na_2SO_4 getrocknet und zur Trockene eingeengt (Standardaufarbeitung). Kristallisation aus destill. Methanol liefert 3 g 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-androst-5-en-3 β -ol, frei von Katalysatorgiften, das in möglichst wenig sied. Methanol gelöst, mit der gleichen Menge heißen Methanols verdünnt und mit 0,4 bis 0,5 g 10proz. Pd/C (Merck/Schuchardt) versetzt wird. Nach dreistündiger Hydrierung, während der das Reaktionsmedium langsam Raumtemp. annimmt, wird der Katalysator abgetrennt, ausgewaschen und das Lösungsmittel abdestilliert. Chromatographie des Rückstandes (200 g Kieselgel 60; CHCl_3 /Essigester 5 : 1) liefert 2,5 g 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androstan-3 β -ol (84%), Schmp. 205—206° (Lit.⁷ für 3 ξ -ol: 199—200°).

NMR: 0,78 18- CH_3 , 0,88 19- CH_3 , 0,80 4 α - CH_3 , 0,98 4 β - CH_3 , 2,03 17 β -OAc, 3,25 3 α -H, 4,62 ppm 17 β -H. (Die Zuordnung der Methylgruppen erfolgte durch Vergleich mit dem NMR-Spektrum des 4,4-Bistrideutero-methyl-Derivates.)

MS: M^+ 362.

17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androstan-3-on

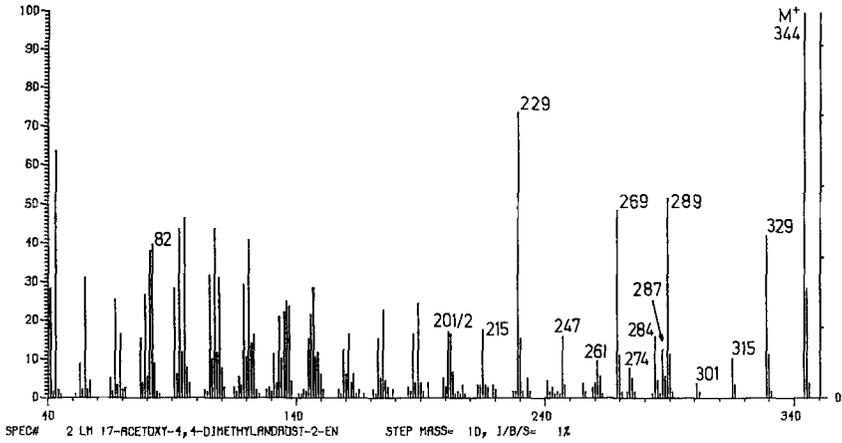
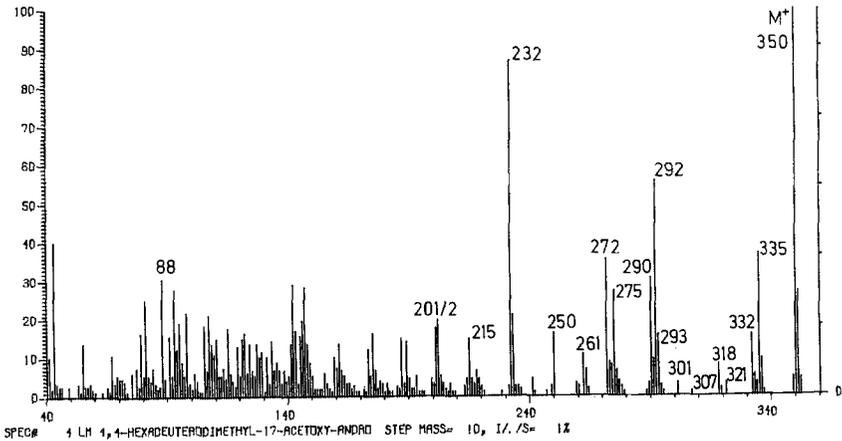
2,5 g 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androstan-3 β -ol werden in 200 ml Aceton gelöst und bei Raumtemp. mit 5 ml einer Lösung von 2,7 g CrO_3 in 7,7 ml Wasser und 2,3 ml konz. H_2SO_4 versetzt. Nach einer Minute wird das Reaktionsgemisch in 1 l Eiswasser gegossen, der Niederschlag abfiltriert und aufgearbeitet. Ausb. 2,35 g (95%), Schmp. 148—150° (Lit.⁷: 149—150°).

NMR: 0,79 18- CH_3 , 1,05 19- CH_3 , 4,4-diMe, 2,03 17 β -OAc, 4,6 ppm 17 α -H.

MS: M^+ 360.

17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en (2)

Eine Lösung von 1 g 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androstan-3-on in 30 ml Eisessig wird bei Raumtemp. mit 3 ml einer molaren Lösung von Brom in Eisessig versetzt und 30 Min. gerührt. Neutralisation mit gesätt. NaHCO_3 -Lösung und Aufarbeitung des Niederschlages liefert rohes 2-Bromderivat, das in 100 ml Dioxan gelöst, mit 300 mg NaBH_4 in 5 ml Wasser versetzt und nach 12 Stdn. aufgearbeitet wird. Das rohe Bromhydrin wird in 30 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 3 g Zinkpulver 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Abfiltrieren, Auswaschen des Niederschlages mit Eis-

Abb. 1. Massenspektrum von 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-enAbb. 2. Massenspektrum von 17 β -Acetoxy-4,4-bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en (5)

essig, Einengen der vereinigten org. Phasen, Lösen des Rückstandes in CHCl_3 und Aufarbeiten liefert ein Produktgemisch, aus dem sich 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en durch Chromatographie (80 g Kieselgel 60; CHCl_3) mit 16% Ausb. isolieren läßt (156 mg). Umkristallisieren aus Methanol ergibt ein spektroskopisch sauberes Produkt (Schmp. 132 bis 137°).

NMR 0,78 18- CH_3 , 0,89 19- CH_3 , 0,89 + 0,95 4,4-diMe, 2,03 17 β -OAc, 4,62 17 α -H, 5,48 ppm Olefin-H.

MS: siehe Abb. 1.

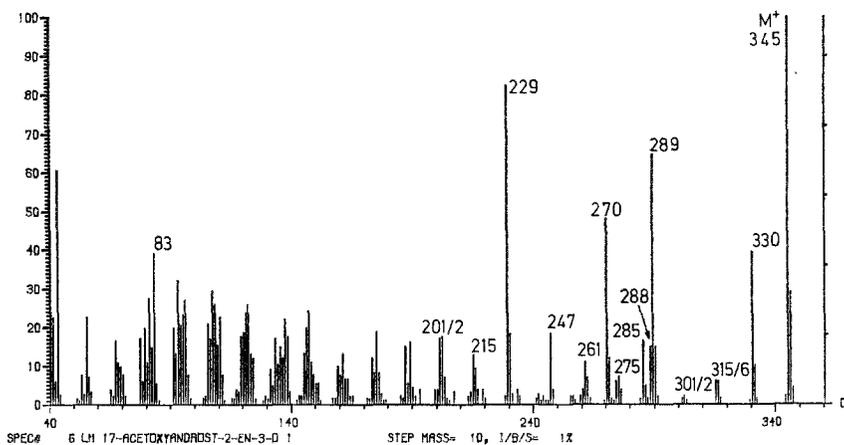


Abb. 3. Massenspektrum von 17β -Acetoxy-4,4-dimethyl- 5α -androst-2-en-3- d_1 (4)

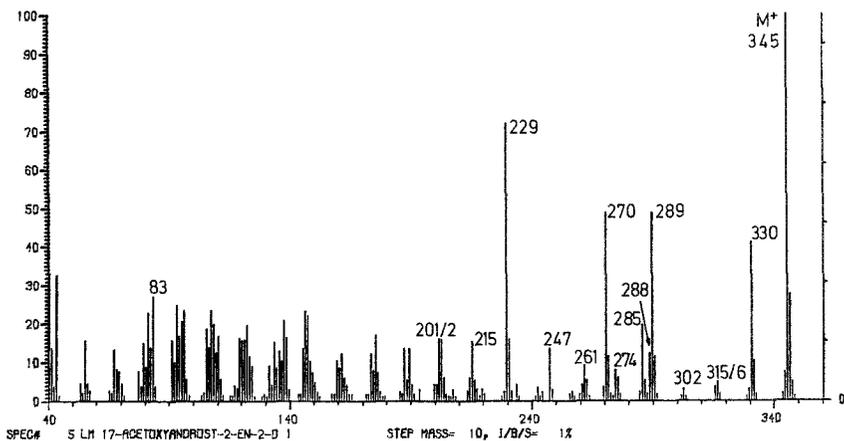


Abb. 4. Massenspektrum von 17β -Acetoxy-4,4-dimethyl- 5α -androst-2-en-2- d_1 (3)

17β-Acetoxy-4,4-bis-trideuteromethyl-5α-androst-2-en (5)

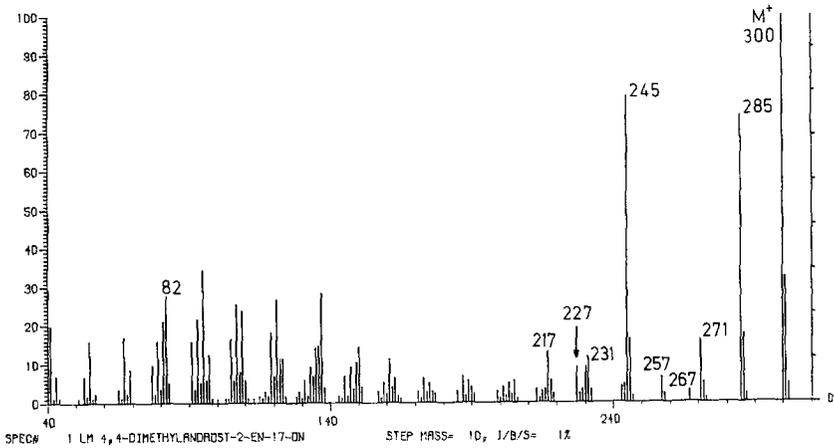
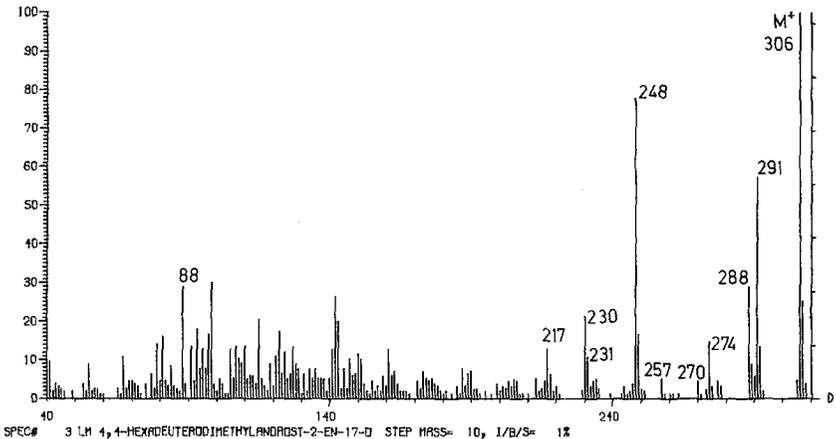
wird auf gleichem Wege aus Testosteron, jedoch unter Verwendung von Methyljodid- d_3 hergestellt.

NMR: Es fehlen die 4,4-Dimethyl-Signale bei 0,89 und 0,95 ppm.

MS: siehe Abb. 2.

17β-Acetoxy-4,4-dimethyl-5α-androst-2-en-3-d1 (4)

wird auf gleichem Wege wie die undeuterierte Verbindung, jedoch unter Verwendung von $\text{NaBD}_4/\text{D}_2\text{O}$ /Dioxan bei der Reduktion der Ketogruppe hergestellt (98% d_1).

Abb. 5. Massenspektrum von 4,4-Dimethyl-5 α -androst-2-en-17-onAbb. 6. Massenspektrum von 4,4-Bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en-17-on (6)

NMR: Veränderung nur im Bereich der olefinischen Protonen (1 H).
MS: siehe Abb. 3.

17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en-2-d₁ (3)

Eine Lösung von 300 mg Na in 10 ml absol. C₂H₅OD wird unter N₂ mit 1 g 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3-on versetzt und 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Neutralisation mit CH₃COOD und Aufarbeitung liefert rohes 17 β -Hydroxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-3-on-2,2-d₂ (72% d₂, 24% d₁), das mit Ac₂O/Pyridin reacetyliert wird. Das so erhaltene 17-Acetoxy-Derivat wird in 20 ml CH₃COOD gelöst und mit einem Äquivalent

Brom in absol. CCl_4 umgesetzt. Weiterverarbeitung wie oben ($\text{Zn}/\text{CH}_3\text{COOH}$) liefert 110 mg (12%) der 2- d_1 -Verbindung (92% d_1).

NMR: Veränderung nur im Bereich der olefinischen Protonen (1 H).
MS: siehe Abb. 4.

4,4-Dimethyl-5 α -androst-2-en-17-on (1)

50 mg 17 β -Acetoxy-4,4-dimethyl-5 α -androst-2-en werden in 10 ml absol. Tetrahydrofuran gelöst, mit 10 mg LiAlH_4 versetzt und 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Aufarbeitung nach Zersetzen mit Wasser liefert den 17 β -Alkohol (Doppelschmp. 137—139°, 147°), der in 10 ml Aceton gelöst und mit 0,2 ml der zuvor beschriebenen Oxidationslösung versetzt wird. Nach 1 Min. wird mit Wasser verdünnt und aufgearbeitet. Ausb. 27 mg (62%), Schmp. (aus Aceton/Wasser) 148—156°.

NMR: 0,87 18- CH_3 , 0,92 19- CH_3 , 0,92 + 0,97 4,4-diMe, 5,5 ppm Olefin-H.

MS: siehe Abb. 5.

4,4-Bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en-17-on (6)

wird auf gleichem Wege aus 17 β -Acetoxy-4,4-bis-trideuteromethyl-5 α -androst-2-en hergestellt.

NMR: Es fehlen die 4,4-Dimethyl-Signale bei 0,92 und 0,97 ppm.
MS: siehe Abb. 6.

Literatur

- ¹ 11. Mitt.: H. Budzikiewicz und U. Besler, *Org. Mass Spectrom.* **11**, 398 (1976).
- ² H. Budzikiewicz und M. Linscheid, *Org. Mass Spectrom.* **9**, 88 (1973).
- ³ L. Tökés, G. Jones und C. Djerassi, *J. Amer. Chem. Soc.* **90**, 5465 (1968).
- ⁴ H. Budzikiewicz, J. I. Brauman und C. Djerassi, *Tetrahedron* **21**, 1855 (1965).
- ⁵ H. E. Audier, *Org. Mass Spectrom.* **2**, 283 (1969).
- ⁶ H. J. Ringold und G. Rosenkranz, *J. Org. Chem.* **22**, 602 (1957).
- ⁷ H. R. Schlatter, Ch. Lüthy und W. Graf, *Helv. Chim. Acta* **57**, 1044 (1974).
- ⁸ J. F. Biemann, D. Kucan, M. Rajic, P. Witz und G. Ourisson, *Bull. Soc. Chim. France* **1962**, 330.
- ⁹ J. F. Biemann und G. Ourisson, *Bull. Soc. Chim. France* **1962**, 331.
- ¹⁰ D. R. James, R. W. Rees und C. W. Shoppee, *J. Chem. Soc.* **1955**, 1370.
- ¹¹ S. J. Cristol und L. E. Rademacher, *J. Amer. Chem. Soc.* **81**, 1600 (1959).

Korrespondenz und Sonderdrucke:

Prof. Dr. H. Budzikiewicz
Institut für Organische Chemie
Universität zu Köln
Greinstraße 4
D-5000 Köln 41
Bundesrepublik Deutschland