

ZUM MASSENSPEKTROSKOPISCHEN FRAGMENTIERUNGSVERHALTEN VON STEROIDALKALOIDEN

H. BUDZIKIEWICZ

Department of Chemistry, Stanford University, Stanford, California

(Received 25 May 1964)

Zusammenfassung—Die Massenspektren verschiedener Klassen von Steroidalkaloiden werden diskutiert. Da das Fragmentierungsverhalten in allen Fällen durch die besondere Fähigkeit des Stickstoffatoms, eine positive Ladung als Immoniumion zu stabilisieren, gelenkt wird, ergeben sich für die verschiedenen Strukturtypen charakteristische Spektren, die zur Identifizierung und Klassifizierung herangezogen werden können.

MASSENSPEKTROSKOPIE hat in den letzten Jahren besondere Bedeutung bei der Strukturermittlung von Indolalkaloiden erlangt, in jüngster Zeit sind die Untersuchungen aber auch mit Erfolg auf andere Alkaloidklassen ausgedehnt worden.¹ Die Massenspektren von Steroidalkaloiden sind mit wenigen Ausnahmen, die in Abschnitt 1–3 zusammengefasst sind, bisher jedoch noch nicht systematisch untersucht worden, obwohl gerade für diese Verbindungen äusserst charakteristische Fragmentierungsmuster zu erwarten waren, und zwar aus dem Grund, dass Stickstoff in seiner vierbindigen Form eine positive Ladung bei weitem besser zu stabilisieren vermag als Carbonium- oder Oxonium-ionen, die sich durch Fragmentation des Steroidgerüsts bilden können.² Es ist daher zu erwarten und trifft, wie im folgenden gezeigt werden soll, auch zu, dass die charakteristischen und bevorzugt gebildeten Bruchstücke durch Fragmentation in der Nähe des Stickstoffatoms entstehen. Da nun die verschiedenen Unterklassen der Steroidalkaloide sich gerade in der Art und Umgebung der Stickstofffunktion unterscheiden, liefert die Massenspektroskopie eine wichtige Methode zur Identifizierung und Klassifizierung dieser Verbindungen.

Welche Fragmentierungsmechanismen beobachtet werden, hängt in erster Linie davon ab, wie das Stickstoffatom in das Steroidskelett eingebaut ist. Wenn die Spaltung einer C,C-Bindung ein Fragment liefern kann, in dem die positive Ladung als Immoniumion stabilisiert ist, wird dieser Zerfallsweg absolut dominieren (vergl. Abschnitt 1, 6 und 7). Gibt jedoch homolytische Öffnung einer zum Stickstoff α -ständigen C,C-Bindung ein Radikalion, das zur Bildung von Bruchstücken der Spaltung wenigstens einer weiteren Bindung bedarf (z.B. IIIa), ist dies in den meisten Fällen mit der Umlagerung eines Wasserstoffatoms verbunden, sodass das entstehende positiv geladene Spaltprodukt kein ungepaartes Elektron enthält. Wasserstoffumlagerung in einem sechsgliedrigen Übergangszustand (vergl. Abschnitt 5 und 8) und Wasserstoffübertragung von einem tertiären oder allylischen Kohlenstoff zu einem primären Radikal gefolgt von Homolyse einer C,C-Bindung (vergl. Abschnitt 3 und 4) sind die beiden wichtigen Varianten. Verbindungen, die einen Tetrahydrofuranring mit einem Piperidinring verbunden enthalten, zeigen Öffnung des Sauerstoffringes unter Wasserstoffumlagerung, wie es in Abschnitt 10 und 11 besprochen wird.

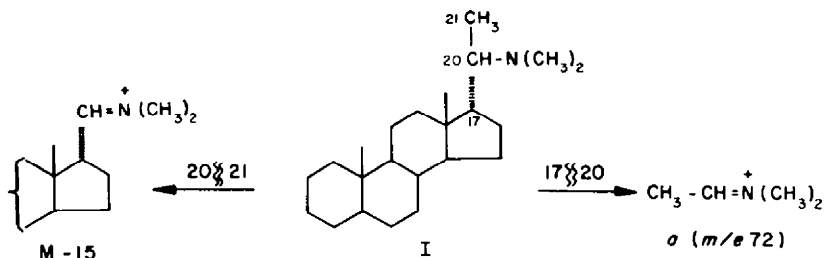
¹ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry* Band 1. Holden-Day, San Francisco (1964).

² Vergl. hierzu H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds* S. 63 ff. Holden-Day, San Francisco (1964).

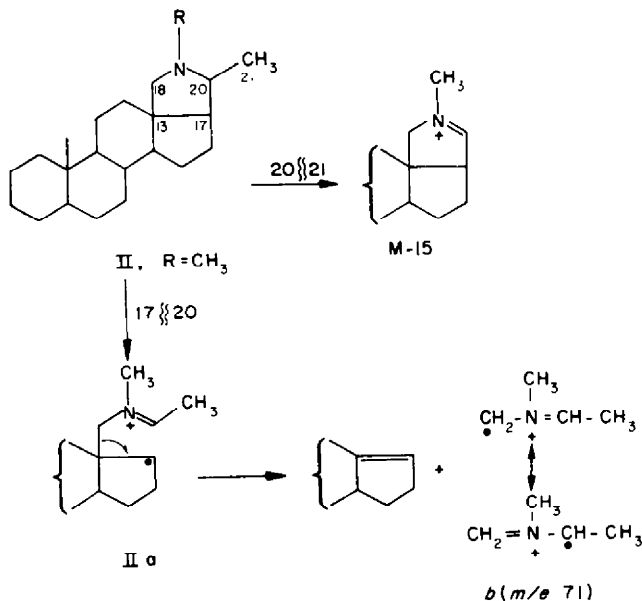
1. *Derivate des 20-Aminopregnans*

Die Spektren von Verbindungen dieser Klasse wurden unabhängig von zwei Arbeitsgruppen untersucht,^{3,4} und Funtuphyllamin C(I) diene als typisches Beispiel.³

Spaltung der 17,20-Bindung in I führt zu dem Immoniumion *a* der Masse *m/e* 72, das für 81 % des Totalionenstroms ($\Sigma 27$) verantwortlich ist. Kein anderes Ion im Spektrum von I erreicht mehr als 2 % der Intensität von *a*. Wenn C-20 eine Methylamino bzw. eine unsubstituierte Aminogruppe (an Stelle der Dimethylaminofunktion in I) trägt, tritt dieses charakteristische Bruchstück mit einer Masse von *m/e* 58 bzw. 44 auf. Wie erwartet, kann in geringem Masse auch der Verlust der C-21 Methylgruppe aus dem Molekülion beobachtet werden.

2. *Derivate des Conanins (II)*

Steroide, die eine 18,20-Iminogruppe besitzen, zeigen zwei bedeutende Fragmente,^{3,4} nämlich ein M-15 Ion und ein Bruchstück *b* der Masse $56 + R$, wobei R der Substituent der Iminofunktion ist (gewöhnlich H oder CH_3 , wodurch sich für *b* *m/e* 57 bzw. 71 ergibt). Die Bildung von *b* wird durch Spaltung der 17,20- (oder der 13,18-)



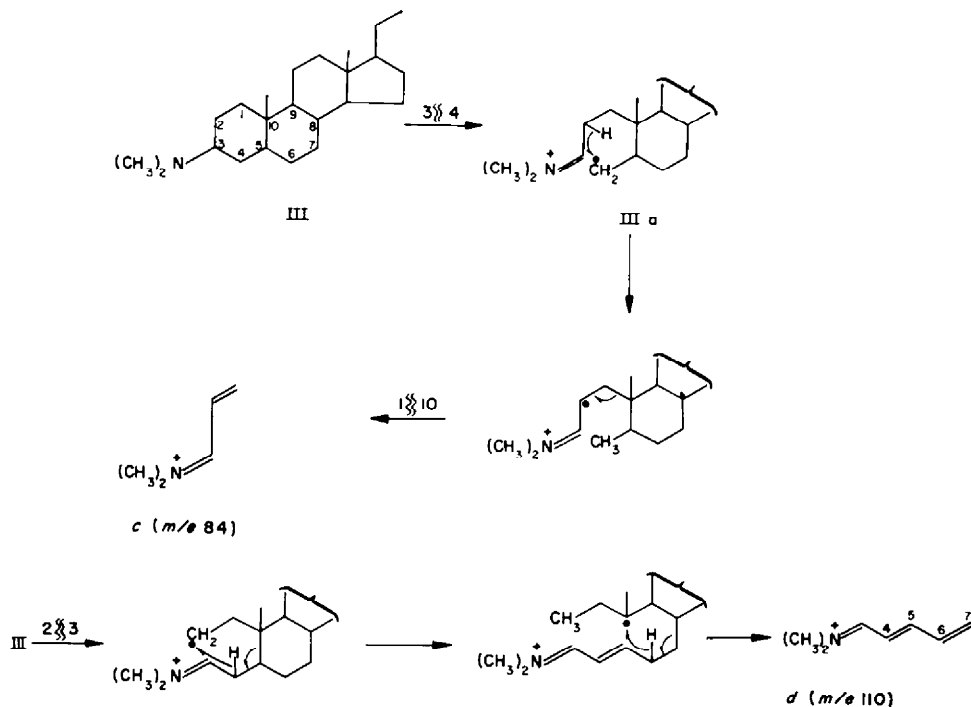
³ W. Vetter, P. Longevialle, F. Khuong-Huu-Laine, Q. Khuong-Huu und R. Goutarel, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1324 (1963).

⁴ L. Dolejš, V. Hanuš, C. Černý und F. Šorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **28**, 1584 (1963).

Bindung eingeleitet (IIa) und das Endprodukt ist ein resonanzstabilisiertes Radikalion (*b*).⁵ Es ist zu erwähnen, dass das $M - 15$ Ion hier zum Unterschied von 20-Aminopregnanderivaten (Abschnitt 1) in vergleichbarer Intensität zu *b* gebildet wird. Ein N,20-Doppelbindung unterdrückt die typische Fragmentierung nicht.⁴

3. Derivate des 3-Aminopregnans

Das Spektrum von 3-Dimethylaminopregnan (III)³ zeigt zwei bedeutende Fragmente, *m/e* 84 und 110. Spaltung der zur Aminogruppe α -ständigen 3,4-Bindung liefert IIIa, das an C-4 ein primäres Radikal ist. Die Energiedifferenz zwischen einem primären und einem allylischen Radikal ist die Triebkraft für den nächsten Schritt, Umlagerung eines Wasserstoffs von C-2 zu C-4 (IIIb). Homolyse der 1,10-Bindung führt schliesslich zu *c* (*m/e* 84). Die Bildung von *d* (*m/e* 110) wird durch Öffnung der 2,3-Bindung initiiert, die folgenden Schritte sind dann analog zu denen, die zur Bildung von *c* führen (Übertragung von einem Wasserstoffatom von C-4 zu C-2, Spaltung der 5,10-Bindung, usw., siehe das Formelschema). Die Fragmentierungsmechanismen für die Bildung von *c* und *d* konnten durch Deuteriummarkierungen bestätigt werden.⁶



Es ist offensichtlich, dass die Fragmente *c* und *d* in ihrer Masse durch die Art der Substituenten an der Aminogruppe beeinflusst werden, *c* aber zusätzlich noch durch Substitution an C-1 und C-2, und *d* an C-4 bis C-7. Solche Massenverschiebungen können somit zur Lokalisierung von funktionellen Gruppen herangezogen werden.³ Eine 5,6-Doppelbindung, die in natürlich vorkommenden Steroiden häufig angetroffen

⁶ Pfeile in den Formelbildern sollen in dieser Arbeit Einelektronenverschiebungen andeuten.

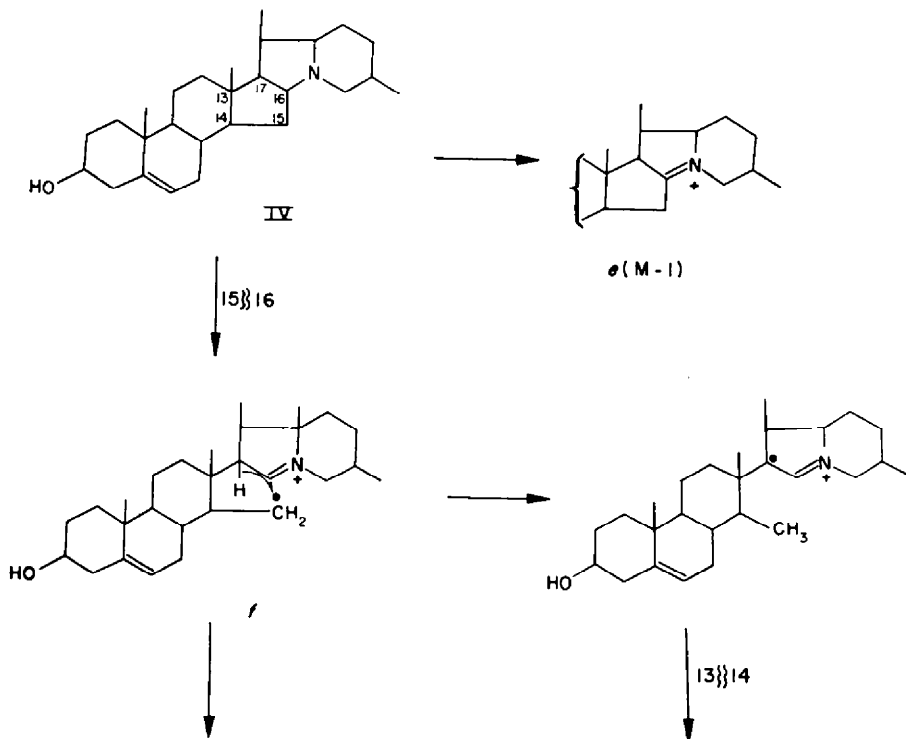
³ Z. Pelah, M. A. Kielczewski, J. M. Wilson, M. Ohashi, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 1470 (1963).

wird, unterdrückt die Bildung von *d*, da die Ausbildung des konjugierten Triensystems nicht möglich ist.^{3,4} Das Ion *c* ist in diesem Fall das einzige Fragment von Bedeutung im Spektrum. Es ist zu erwähnen, dass die Bildungswahrscheinlichkeit von *c* und *d* am grössten ist, wenn C-3 eine Dimethylaminogruppe trägt, aber mit abnehmender Substitution am Stickstoff (NHCH₃, NH₂) an Bedeutung verliert.

Alkaloide, die Stickstofffunktionen an C-3 sowie an C-20 tragen (Derivate des 3,20-Diaminopregnans und des 3-Aminoconanins) zeigen in ihren Spektren die für beide N-Funktionen typischen Fragmente,^{3,4} und Massenspektroskopie ist mit Erfolg zur Charakterisierung neuer Alkaloide dieser Klassen verwendet worden.^{7,8}

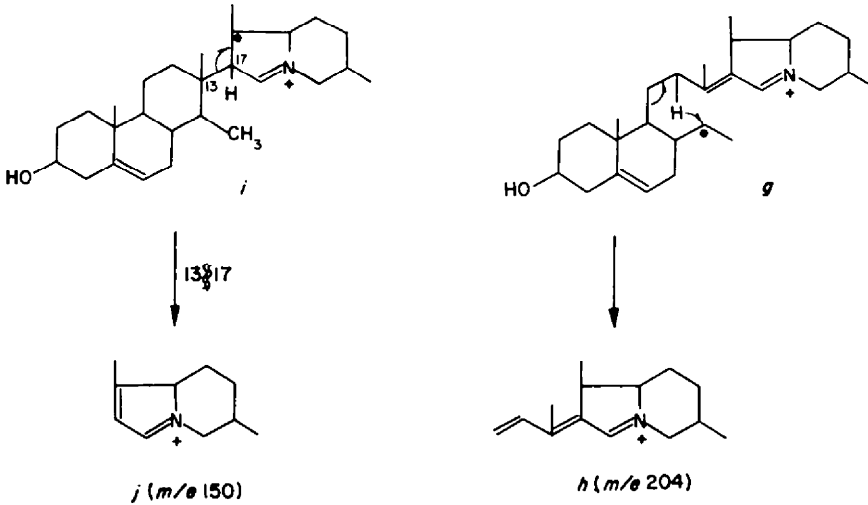
4. Solanidin

Das Spektrum von Solanidin (IV) ist in Abb. 1 wiedergegeben. Als Primärschritt für die Bildung der wichtigsten Fragmente kann wieder die Ausbildung eines Immoniumions angenommen werden. Eine Möglichkeit hierzu ist Verlust eines der α -ständigen Wasserstoffatome unter Ausbildung z.B. von *e*. Bevorzugter erscheint jedoch Spregung der 15,16-Bindung, die zur Ausbildung des Radikations *f* führt. Dieses kann nun in einer Schrittfolge weiterzerfallen, die vollkommen analog zur Bildung von *d* aus III ist. Übertragung des C-17 Wasserstoffs nach C-15 führt zu dem gegenüber einem primären stabileren allylischen Radikal und nachfolgende Spaltung der 13,14-Bindung gibt *g*. Die gleiche Schrittfolge wiederholt sich nochmals (siehe Formeln) und das resultierende Endprodukt ist *h* (*m/e* 204).



⁷ M.-M. Janot, R. Goutarel und C. Conreur, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2234 (1963).

⁸ M.-M. Janot, F. Khuong-Huu-Laine und R. Goutarel, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 641 (1963).



Wird im Radikal *f* anstelle des C-17 der C-20 Wasserstoff nach C-15 übertragen (*i*) (der Energiegewinn der Umwandlung eines primären in ein tertiäres Radikal dient hier als Triebkraft), so führt nachfolgende homolytische Sprengung der 13,17-Bindung zu dem bedeutendsten Bruchstück im Spektrum (Abb. 1) von Solanidin (IV), nämlich, *j* (*m/e* 150).

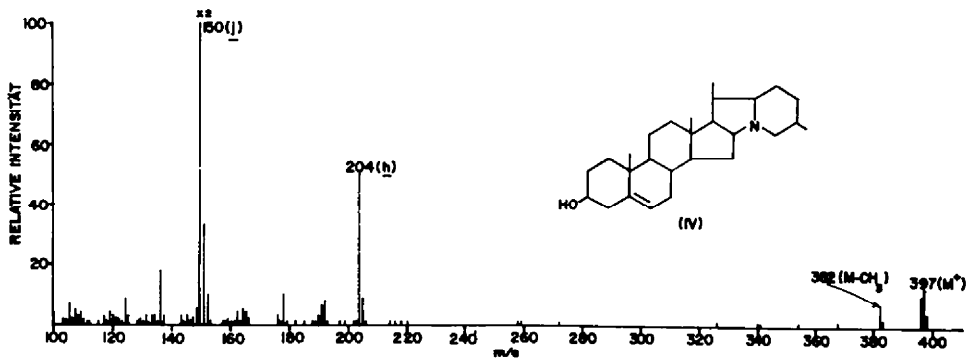


ABB. 1. Massenspektrum von Solanidin.

5. Zygazin und verwandte Alkaloide

Das Spektrum von Zygazin (V; Abb. 2) zeigt sein bedeutendstes Fragment bei einer Masse von *m/e* 112. Spaltung einer der zum Stickstoff α -ständigen C-C-Bindungen (z.B. 13,18) gibt ein Immoniumion (Va), das unter Umlagerung eines γ -Wasserstoffatoms in einem sechsgliedrigen Übergangszustand weiter zerfallen kann, eine für Carbonylverbindungen und Olefine typische Reaktion.⁹ Primäre Homolyse der 20,22-Bindung (Vb) mit nachfolgender Übertragung des C-17 Wasserstoffs zu C-22 kann in analoger Weise zu dem tautomeren *k'* (*m/e* 112) führen. Änderung der Substitution im Steroidskelett (z.B. Verticindion, VI, und seine Derivate) ändert das Bild nicht

⁹ W. F. McLafferty, *Analyt. Chem.* **31**, 2072 (1959).

wesentlich; das dominierende Bruchstück ist nach wie vor k (m/e 112). Diese Beobachtung kann bei stickstoffhaltigen Steroiden immer wieder gemacht werden: das Heteroatom dominiert das Fragmentierungsverhalten derart, dass andere Zerfallswege kaum von Bedeutung sind. In dieser Eigenheit liegt die Bedeutung der Massenspektroskopie für die Klasse der Steroidalkaloide begründet.

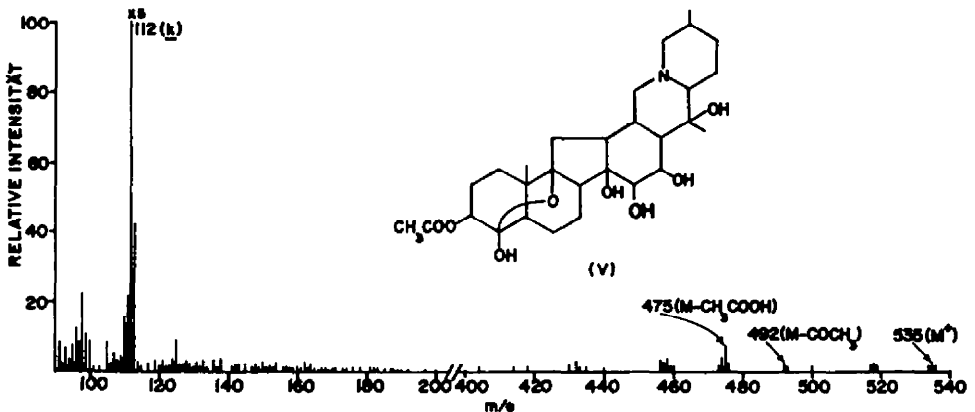
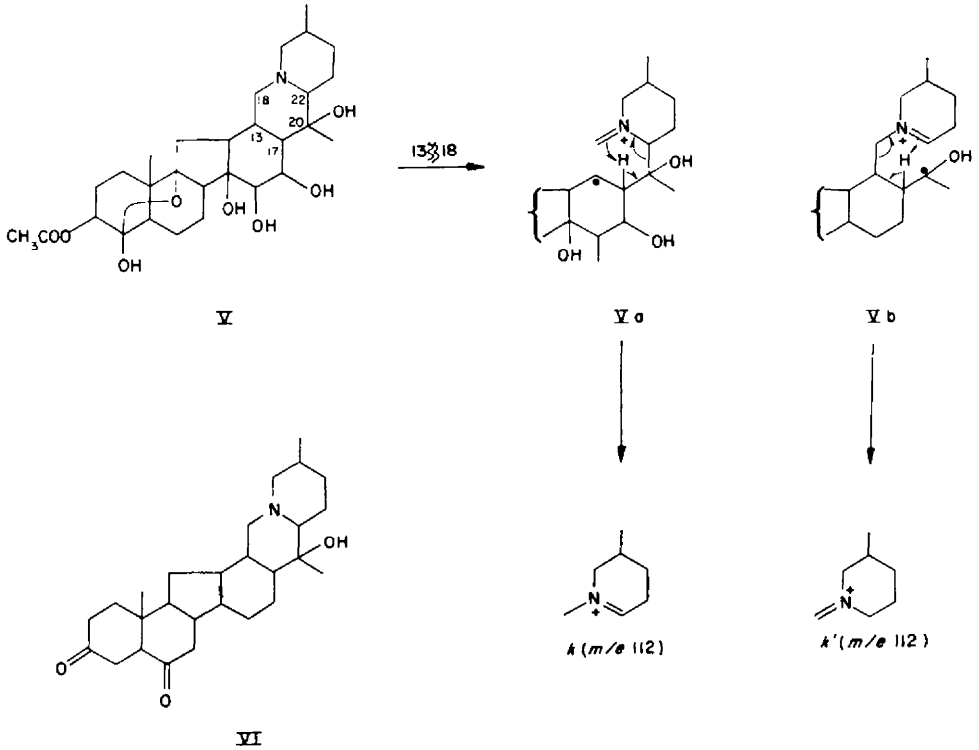
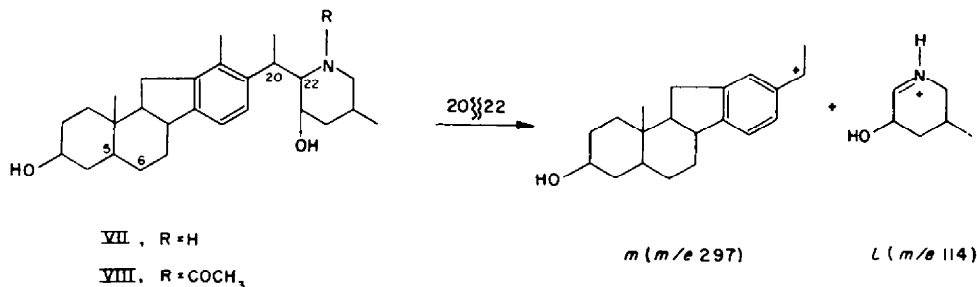


ABB. 2. Massenspektrum von Zygazin.

6. Veratramin und verwandte Alkaloide

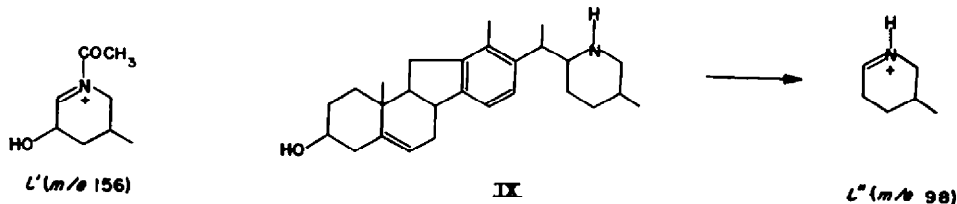
In Abb. 3 ist das Spektrum von Dihydroveratramin (VII) wiedergegeben. Die erwartete α -Spaltung führt wieder zum bedeutendsten Fragment, *l* (m/e 114). Zu einem gewissen Grad wird aber die positive Ladung bei dieser Fragmentierung vom benzylicischen C-20 zurückgehalten (möglicherweise unter Erweiterung von Ring D zu einem Tropylliumion¹⁰), sodass ein Ion der Masse m/e 297 (*m*) entsteht.



Das Bruchstück *m* wird durch Substituenten im Steroidskelett in seiner Masse beeinflusst; z.B. im Spektrum von Veratramin (VII mit einer 5,6-Doppelbindung) tritt es bei m/e 295 auf. Auf der anderen Seite erleidet *l* Verschiebung in seiner Masse bei Veränderung der Substitution im Piperidinring: N-Acetylverbindungen (z.B. VIII) geben das Hauptfragment mit einer Masse von m/e 156 ($114 + 42$) (in geringerem Masse tritt auch ein Fragment der Masse 114, *l* auf, das durch weiteren Zerfall von *l'* unter Verlust von Keten gebildet wird), während *m* in seiner Masse unverändert bleibt.

Die Spektren von Veratramin und seinen Derivaten zeigen eine gewisse Komplikation in der Molekularregion: Ein M-1 Fragment erreicht oder übersteigt an Bedeutung das Molekülion, ein M-2 Ion von geringer Bedeutung und ein M + 1 Ion, dessen Intensität stark von den Versuchsbedingungen abhängt,¹¹ treten auf. Das Molekülion und seine Umgebung (Abb. 4) im Spektrum von Veratramin ist ein typisches Beispiel. Da jedoch die Fragmente *l* und *m* zusammengenommen die Masse des Gesamtmoleküls ergeben, kann das Molekulargewicht leicht auf diese Weise bestimmt werden.

Kürzlich wurde ein neues Alkaloid aus *Veratrum album*, Verarin, isoliert. Das Hauptfragment wies eine Masse von m/e 98 auf und ein Ion geringer Intensität m/e 295. Ein wenig intensives Molekülion trat bei m/e 393 auf, begleitet von einem M-1 Fragment (295 und 98 geben als Summe ebenfalls 393). Diese Befunde wiesen darauf hin, dass



¹⁰ Vergl. H. M. Grubb und S. Meyerson, in *Mass Spectrometry of Organic Ions* (Herausgeber F. W. McLafferty) S. 453 ff. Academic Press, New York (1963).

¹¹ J. H. Beynon, *Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry* S. 275 ff. Elsevier, Amsterdam (1960).

es sich bei Verarin um ein Desoxyveratramin handelt (IX), was durch NMR und chemische Befunde bestätigt werden konnte.¹²

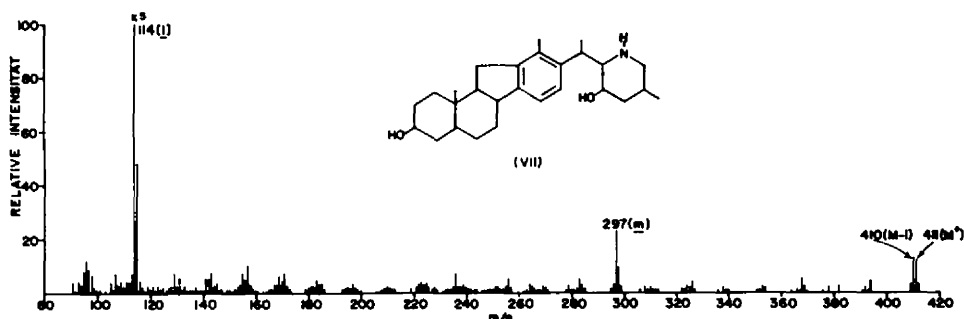


ABB. 3. Massenspektrum von Dihydroveratramin.

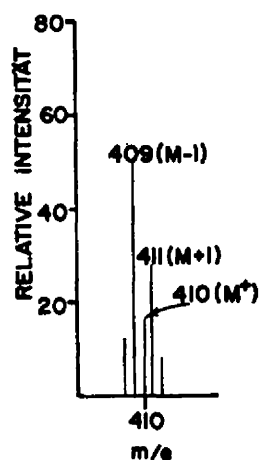
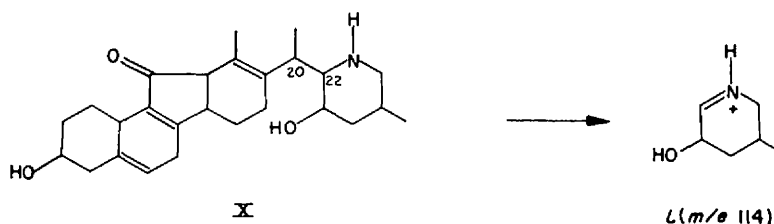


ABB. 4. Massenspektrum von Veratramin (Umgebung des Molekülions).

7. Isojervin

Isojervin (X) ist strukturell mit den Alkaloiden der Veratraminklasse verwandt. Das bei weitem bedeutendste Fragment ist wieder l (m/e 114), das durch Spaltung der 20,22-Bindung entsteht. Da jedoch Isojervin zum Unterschied von Veratramin und seinen Derivaten (z.B. VII) keinen aromatischen D-Ring besitzt, wird die positive Ladung beim Bruch der 20,22-Bindung nur in untergeordnetem Masse am C-20 zurückgehalten und ein Bruchstück entsprechend m ist kaum erkennbar in Spektrum



¹² J. Tomko und Š. Bauer, *Coll. Czech. Chem. Comm.* in press.

von X; dieser Befund kann zur Unterscheidung von Isojervin und Veratramin-Derivaten herangezogen werden.

8. Solanocapsin

Das Spektrum von Solanocapsin (XI) ist in Abb. 5 wiedergegeben. Um Strukturen für die weniger bedeutenden Fragmente (m/e 70, 84) aufstellen zu können, wäre es nötig gewesen die Spektren mehrerer Derivate von Solanocapsin aufzunehmen, die nicht zu Verfügung gestanden sind. Die Bildung des Hauptbruchstückes, m/e 114, wird jedoch offensichtlich wieder durch Sprengung der zum Stickstoff α -ständigen 20,22-Bindung eingeleitet (XIa). Weiterer Zerfall des so gebildeten Zwischenproduktes unter Umlagerung des C-16 Wasserstoffes in einem sechsgliedrigen Übergangszustand (vergl. IV \rightarrow k) führt zu dem Piperidiniumion n (m/e 114). Die von Ring A stammenden Fragmente (c, m/e 56 und d, m/e 82) sind, da C-3 eine unsubstituierte Aminogruppe trägt, von geringerer Intensität (vergl. Abschnitt 3).

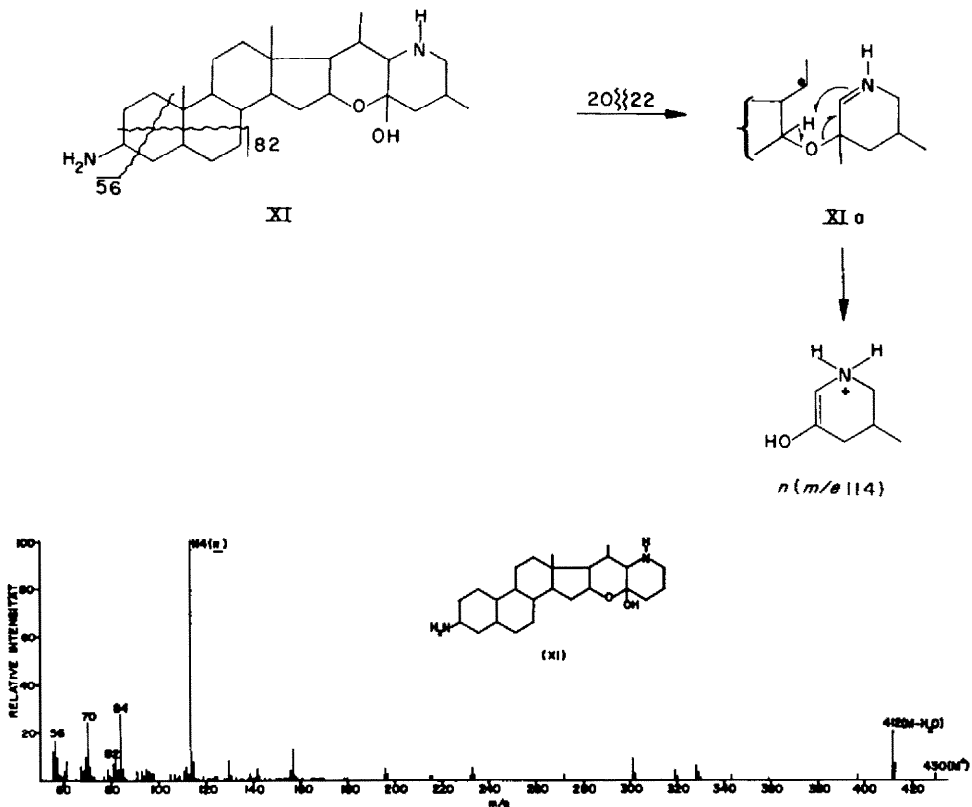


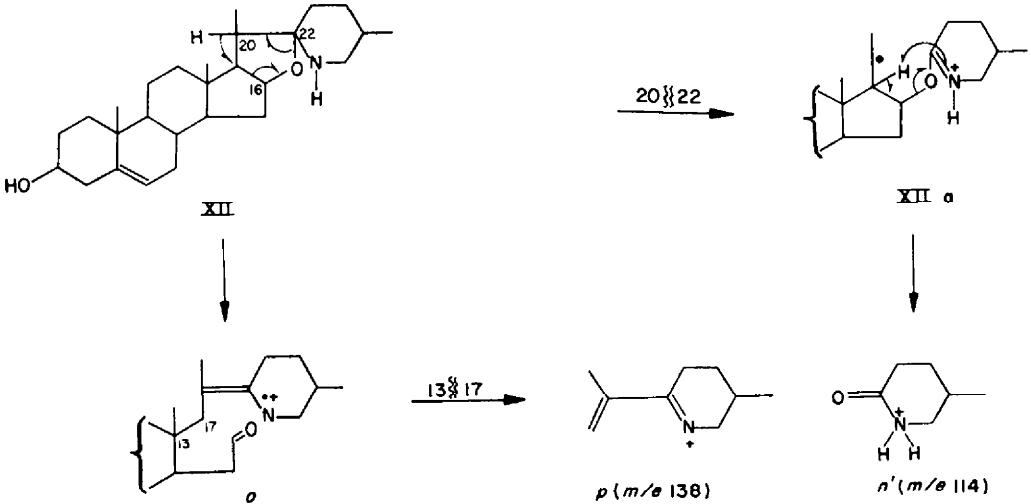
ABB. 5. Massenspektrum von Solanocapsin.

10. Solasodin und verwandte Alkaloide

Das Fragmentierungsverhalten von Alkaloiden dieser Gruppe ähnelt sehr dem der Steroidsapogenine.¹³ Die Entstehung des Hauptfragmentes n' , m/e 114, im Spektrum

¹³ H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, *Monatsh. Chem.* 93, 1033 (1962).

von Solasodin XII) (Abb. 6) sowie seines 5,6-Dihydroderivates Tomatidin kann in der nun schon wiederholt beobachteten Weise erklärt werden, nämlich durch Sprengung der 20,22-Bindung (XIIa) mit nachfolgender Umlagerung des C-17 Wasserstoffs in einem sechsgliedrigen cyclischen Übergangszustand.



Die Bildung des zweiten bedeutenden Fragmentes, *p*, *m/e* 138 ist durch Öffnung des Tetrahydrofuranringes in einem sechsgliedrigen Übergangszustand (*o*) mit nachfolgender Sprengung der 13,17-Bindung erklärt worden.¹³ Analoge Fragmente treten in den Spektren der Steroidsapogenine auf, doch erscheinen sie dort um eine Masseneinheit verschoben (Ersatz des NH = 15 gegen O = 16 in Ring F).

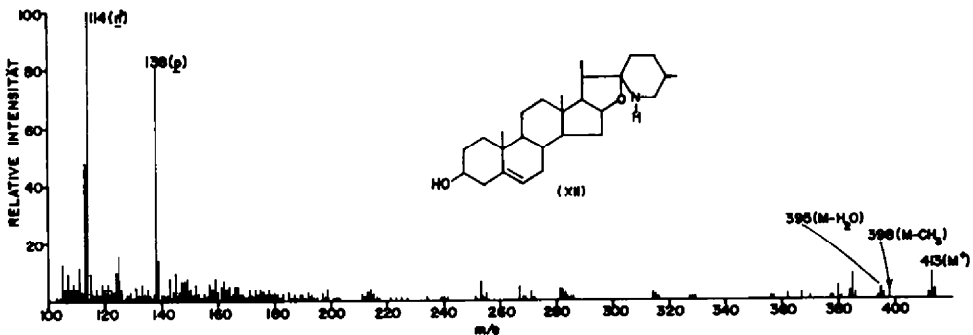


ABB. 6. Massenspektrum von Solasodin.

11. Jervin

Sprengung der 20,22-Bindung führt im Falle des Jervins (XIII; Abb. 7) zu einem Radikalion (*q*), das zum Unterschied von den bisher besprochenen Fällen nicht unter Umlagerung eines γ -Wasserstoffatoms weiter zerfallen kann, da C-17 tetrasubstituiert ist. Weiterer Zerfall von *q* unter Spaltung der O,C-17 bzw. der O,C-23-Bindung führt zu Fragmenten von nur untergeordneter Bedeutung (*r*, *m/e* 113 und *s* *m/e* 97). Die Hauptfragmentation verläuft vielmehr in einer anderen Richtung; Ringöffnung des

Tetrahydrofuranringes in einer Weise, in der es für Solasodin (XII) angenommen worden ist, führt zu *t* (*m/e* 125), das sich als Radikalion durch weiteren Zerfall zu stabilisieren sucht: Verlust eines Wasserstoffatoms führt zu dem Immoniumion *u* (*m/e* 124), während Abspaltung der C-21 Methylgruppe (Bruch der allylisch aktivierten 20,22-Bindung) *v* gibt, das sich als Biradikal wahrscheinlich zu einer stabileren Partikel umlagert. Der Übergang *t* → *v* wird durch die Anwesenheit eines metastabilen Ions bei *m/e* 97·5 (ber. 97·3) bestätigt. Im Spektrum von O,N-Diacetyljervin (XIV) sind die

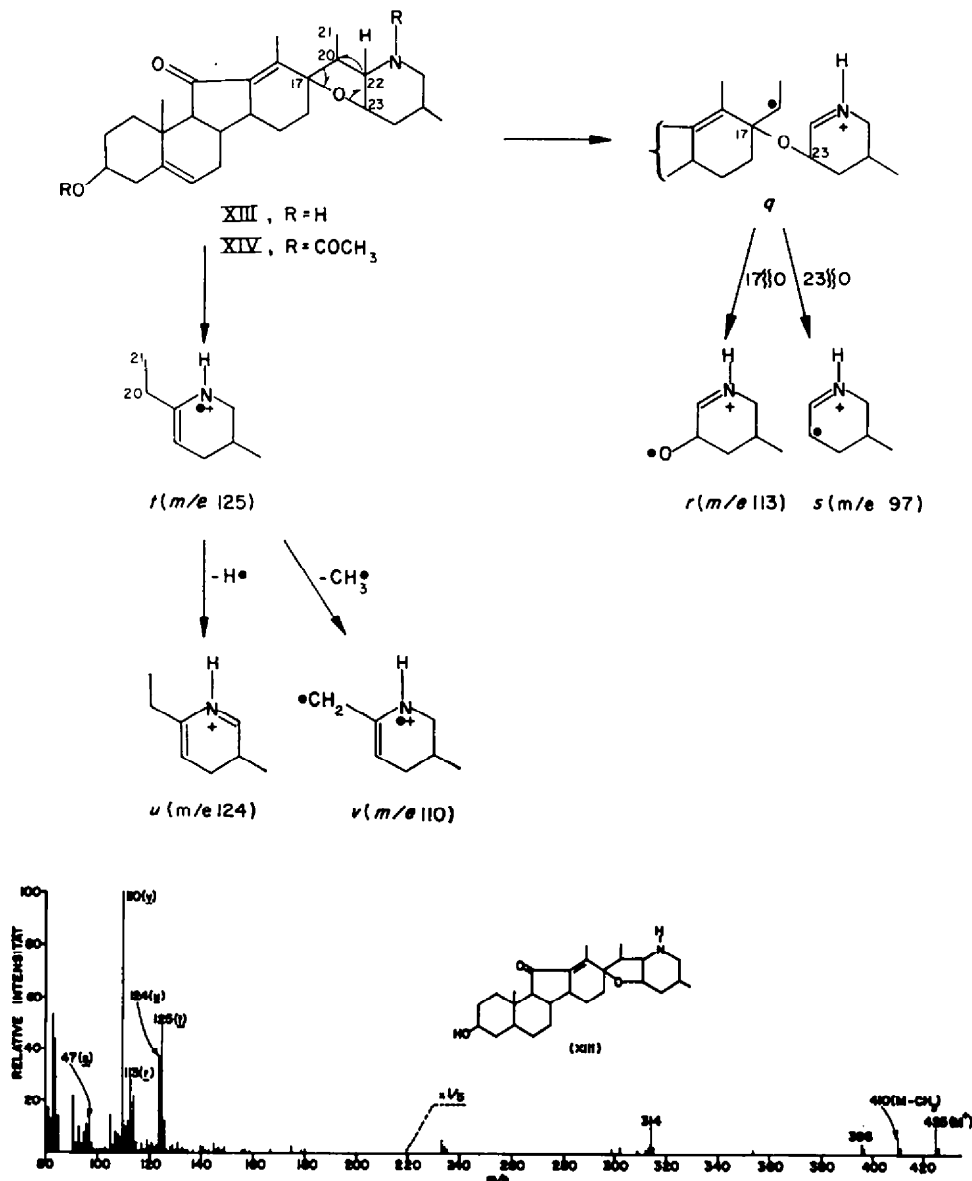


Abb. 7. Massenspektrum von Jervin.

beiden Hauptfragmente wie erwartet nach m/e 167 ($125 + 42$) und m/e 152 verschoben. Das metastabile Ion für den Zerfall von t zu v tritt entsprechend bei m/e 139 (ber. 139) auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Bildung der wichtigsten Fragmente, die als charakteristisch für die einzelnen Untergruppen der Steroidalkaloide angesehen werden können, durch Fragmentierung in der Nähe der Stickstofffunktion eingeleitet wird, und dass die resultierenden Bruchstücke stabile Ammonium- oder Immoniumionen darstellen. Verschiebung dieser Fragmente in ihren Massen kann zusätzlich zur Lokalisierung von Substituenten herangezogen werden, doch ist es hier wie im allgemeinen von Bedeutung, für eine unbekannt Verbindung das Spektrum wenigstens eines weiteren Derivates aufzunehmen, um so eine Bestätigung für angenommene Massenverschiebungen zu erlangen. In Tabelle 1 sind die charakteristischen Bruchstücke für die verschiedenen Strukturtypen der Steroidalkaloide nochmals zusammengefasst.

TABELLE I

N,N-Dimethyl-20-aminopregnane (z.B.I)	$a(74)$
Conanin (II)	$b(71)$, M-15
3-N,N-Dimethylaminopregnan (III)	$c(84)$, $d(110)$
Solanidin (IV)	$j(150)$, $h(204)$
Zygazin (V)	$k(112)$
Veratramin (VII)	$l(114)$, M-114
Isojervin (X)	$l(114)$
Solanocapsin (XI)	$n(114)$
Solasodin (XII)	$n'(114)$, $p(138)$
Jervin (XIII)	$v(110)$, $u(124)$, $t(125)$

Die Spektren wurden mit einem Consolidated Electrodynamics Corporation 21-103C Massenspektrometer mit direktem Einlassystem¹⁴ gemessen (Ionisierungsenergie 70 eV, Ionisierungsstrom 50 μ A). Die in dieser Arbeit verwendeten Substanzen wurden z.T. von den folgenden Herrn in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt: Dr. E. Bianchi, National Institutes of Health, Bethesda, Md.; Prof. W. G. Dauben, University of California, Berkeley, Calif.; Prof. S. W. Pelletier, University of Georgia, Athens, Ga.; Prof. Shō Itō, Tohoku University, Sendai, Japan und Prof. W. S. Johnson, Stanford University, Stanford, Calif. Herrn Prof. C. Djerassi möchte ich für sein Interesse am Zustandekommen dieser Arbeit bestens danken.

¹⁴ J. F. Lynch, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *Experimentia* **19**, 211 (1963).