

# ZUR LOKALISIERUNG FUNKTIONELLER GRUPPEN IN STEROIDEN MIT HILFE DER MASSENSPEKTROMETRIE— III<sup>1</sup>

## 3,11-DIHYDROXY-ANDROSTAN-17-ONE

H. OBERMANN, M. SPITELLER-FRIEDMANN und G. SPITELLER  
Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

(Received in Germany 28 September 1970; Received in the UK for publication 13 October 1970)

**Zusammenfassung**—Im Gegensatz zu den Massenspektren der 3,11,17-Triketo-androstane und der 3,11,17 $\beta$ -Trihydroxy-androstane sind die Spektren der isomeren 3,11-Dihydroxy-androstan-17-one an charakteristischen Spaltstücken. Den relativ stärksten Einfluss auf die Bildung von Schlüsselbruchstücken hat eine  $\alpha$ -ständige Hydroxylgruppe in Position 11: Unabhängig von der Konfiguration einer Hydroxylgruppe in der Stellung 3 wird bei *cis*-Verknüpfung des A/B Ringsystems ein Schlüsselbruchstück der Masse 124 gebildet. Für die 11 $\alpha$ -Hydroxy-17-ketogruppierung ist ferner, vor allem bei *trans*-Verknüpfung des A/B Ringsystems, das Auftreten eines M-29 Ions typisch.

**Abstract**—In contrast to the mass spectra of 3,11,17-triketo-androstanes and 3,11,17 $\beta$ -trihydroxy-androstanes the mass spectra of 3,11-dihydroxy-androstan-17-ones are poor in characteristic fragments. A  $\alpha$ -configured hydroxy group in position 11 exerts the most important influence on the production of key fragments. In the case of a *cis* junction of the A/B ring system a key fragment of mass 124 is produced independent of the configuration of the hydroxy group in position 3. In addition for a 11 $\alpha$ -hydroxy-17-keto-structure the presence of a M-29 ion is typical, especially for the isomers with a *trans* junction of the A/B ring system.

IN DER ersten Mitteilung<sup>2</sup> wurde gezeigt, dass Massenspektren von Androstanen, die in der Stellung 3, 11 und 17 eine Ketogruppe haben, typische Massenspektren geben, die eine Ableitung der Stellung der funktionellen Gruppe ermöglichen. In ähnlicher Weise können 3,11,17 $\beta$ -Trihydroxy-androstane an einem Schlüsselbruchstück der Masse 164 erkannt werden.<sup>1</sup> Man sollte daher erwarten, dass der Ersatz der Ketogruppe in Stellung 17 durch eine  $\beta$ -ständige Hydroxylgruppe ebenfalls die Bildung charakteristischer Bruchstücke ermöglicht. Dies ist jedoch nur in sehr beschränktem Mass der Fall.

*Gemeinsame Spaltreaktionen der Isomeren.* Im Gegensatz zu den 3,11,17 $\beta$ -Trihydroxy-androstanen<sup>1</sup> zeigen die Molekülionen meist höchste Intensität, die Neigung zur Wasserabspaltung ist im allgemeinen nur gering. Der obere Massenbereich ist gekennzeichnet durch Ionen, die der Abspaltung von ein und zwei Wassermolekülen entsprechen, sowie Ionen, die durch Verlust von Methylradikalen aus diesen Fragmenten entstehen. Schlüsselbruchstücke, die wie im Falle des Ions der Masse 164 in den Spektren von 3,11,17 $\beta$ -Trihydroxy-androstanen ein typisches Merkmal der gesamten Verbindungsklasse wären, fehlen. Gewisse Hinweise auf das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe im A/B Ringsystem lassen sich lediglich aus der relativ starken Intensität des Ions der Masse 147 vor allem in den Spektren der 5 $\alpha$ -Isomeren gewinnen.

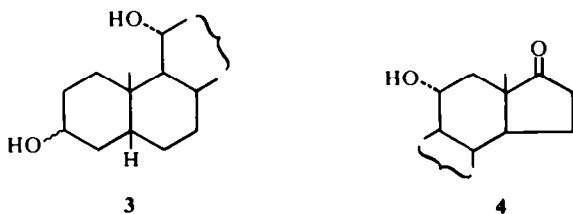
Spaltungsreaktionen unter Eliminierung von Teilen des Ringes D, wie sie für die 3,11,17 $\beta$ -Trihydroxy-androstane und 3-Hydroxy-androstan-17-one<sup>3,4</sup> charakteristisch sind, erfolgen nur mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit, so dass die Ionen der Masse 262

und 244, dem Verlust von C-16 und C-17 aus den Molekülonen bzw. den primären Wasserabspaltungsprodukten entsprechend, nur intensitätsschwach sind.

Aus dem primären Wasserabspaltungsprodukt leitet sich auch das Ion der Masse 232 ( $C_{16}H_{24}O$ ) durch Eliminierung von C-15 bis C-17 ab. Da analoge Reaktionen in 3-Hydroxy-17-ketosteroiden nur mit geringer Wahrscheinlichkeit eintreten, dürfte diese Spaltung durch die Anwesenheit der 11-ständigen Hydroxylgruppe sehr gefördert werden. Aus dem Ion der Masse 232 entsteht durch Methylabspaltung das Fragment der Masse 217 ( $C_{15}H_{21}O$ ).

Der Mangel an typischen Spaltstücken, besonders im Falle der  $11\beta$ -OH Isomeren (siehe unten), lässt es bei Vorliegen eines unbekanntes Dihydroxy-ketoandrostans zweckmässig erscheinen, zunächst durch Oxydation die leicht identifizierbaren Keto-steroido herzustellen, aus deren Spektren sich ohne weiteres die Stellung der Sauerstoffsubstituenten am Ringskelett ableiten lässt. Ist einmal bekannt, dass Sauerstoffsubstituenten in Stellung 3,11 und 17 sitzen, so kann versucht werden, durch eine genaue Analyse der Spektren eine weitgehende Identifizierung zu erreichen.

*Unterscheidung der Isomeren.* Im  $3\alpha,11\alpha$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-on (**1**) und im  $3\beta,11\alpha$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-on (**2**) ist das Strukturelement (**3**) enthalten. Verbindungen mit diesem Strukturelement, zeichnen sich durch eine hohe Neigung zur Bildung von Schlüsselbruchstücken der Masse 124 aus<sup>5</sup> (Abb. 1 und Abb. 2).



Wasserabspaltung aus dem Ion der Masse 124 führt zur Bildung eines Fragmentes der Masse 106.

Das Vorhandensein des Strukturelementes (**4**) ist am Auftreten von M-29 Ionen der Masse 277 erkennbar. Offensichtlich wird bei dieser strukturspezifischen Abbaureaktion die 11-ständige  $CH(OH)$  Gruppe als  $CHO\cdot$  eliminiert. Im Spektrum von **1** wird die  $CHO\cdot$  Eliminierung allerdings durch die hohe Neigung zur Wasserabspaltung nahezu völlig unterdrückt. Diese starke Tendenz zur Wasserabspaltung gibt dem  $3\alpha,11\alpha$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-on gegenüber den anderen Isomeren eine Sonderstellung und ermöglicht eine einfache Unterscheidung von **1** und **2**.

Die Spektren des  $3\alpha,11\alpha$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-ons (**5**) und des  $3\beta,11\alpha$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-ons (**6**) sind durch die für das Vorliegen des Strukturelementes (**4**) typischen Schlüsselbruchstücke der Masse 277, die dem Verlust von  $CHO\cdot$  entsprechen, gekennzeichnet (Abb. 3 und Abb. 4).

Beide Isomere zeigen so wie die entsprechenden  $17\beta$ -Trihydroxysteroido Ionen der Masse 124, jedoch von erheblich geringerer Intensität als **1** und **2**. Eine Unterscheidung von **5** und **6** ist schwierig; **5** zeigt eine etwas grössere Tendenz zur Bildung von Bruchstücken mittlerer Masse (Ionen der Masse 147, 175).

In den Spektren der vier Isomeren mit einer  $11\beta$ -ständigen Hydroxylgruppe, nämlich dem  $3\alpha,11\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-on (**7**), dem  $3\beta,11\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-on (**8**), sowie dem  $3\alpha,11\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-on (**9**) und dem  $3\beta,11\beta$ -

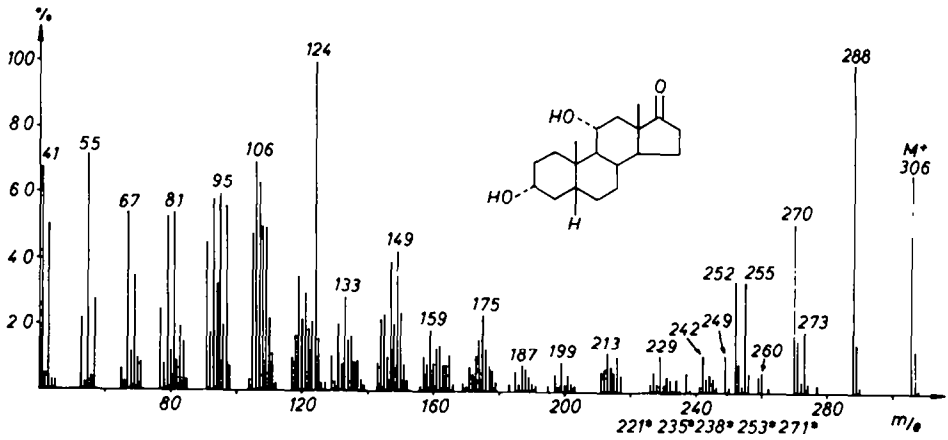


Abb. 1. Massenspektrum des 3α,11α-Dihydroxy-5β-androstan-17-ons (1)

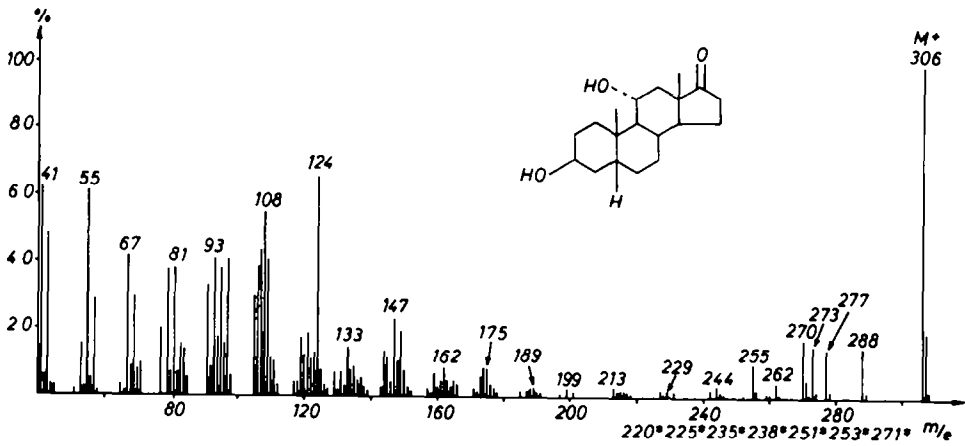


Abb. 2. Massenspektrum des 3β,11α-Dihydroxy-5β-androstan-17-ons (2)

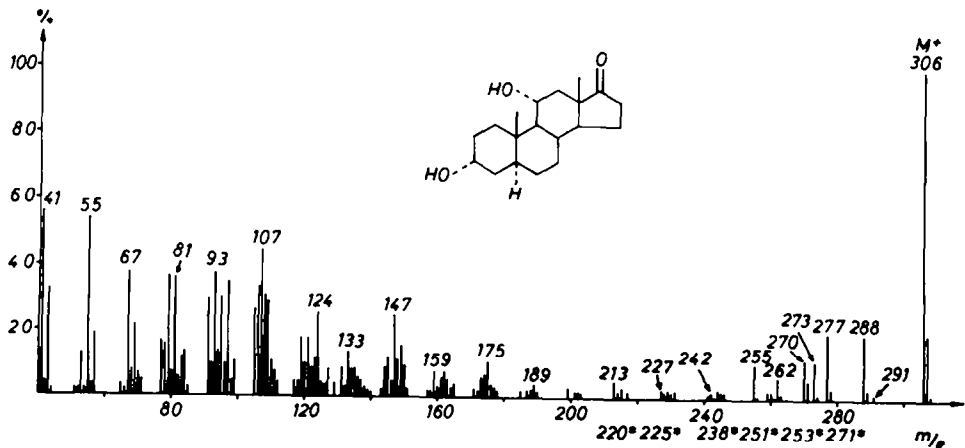


Abb. 3. Massenspektrum des 3α,11α-Dihydroxy-5α-androstan-17-ons (5)

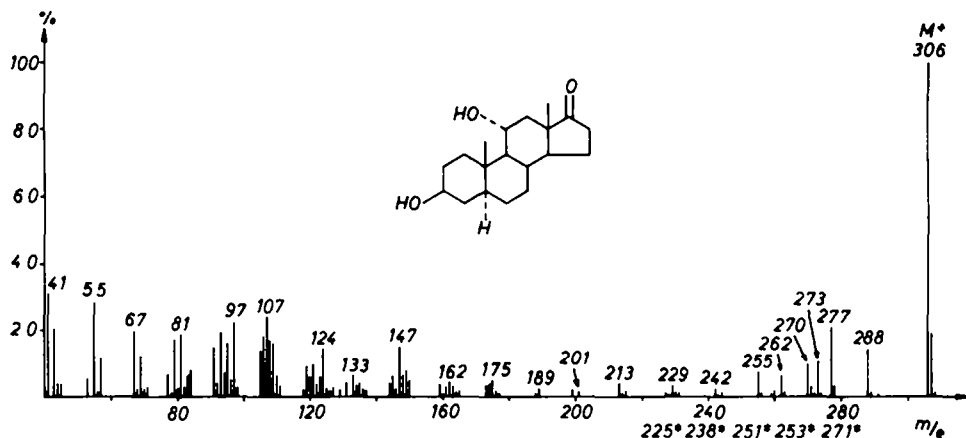


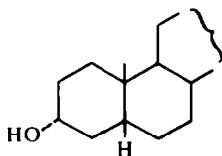
ABB. 4. Massenspektrum des  $3\beta,11\alpha$ -Dihydroxy- $5\alpha$ -androstan-17-ons (6)

Dihydroxy- $5\alpha$ -androstan-17-on (10) fehlen sowohl Schlüsselbruchstücke der Masse 124 als auch solche bei M-29 (Abb. 5–8). Dadurch können sie von den entsprechenden  $11\alpha$ -OH-Isomeren unterschieden werden. Eine Unterscheidung der 4 Isomeren mit  $11\beta$ -ständiger OH-Gruppe ist nur durch eine genaue Analyse der Spektren möglich.

Die Isomeren mit *trans* verknüpften A/B Ringsystem 9 und 10 unterscheiden sich von denen mit *cis* verknüpften A/B Ringsystem 7 und 8 durch die Gegenwart von Bruchstücken der Masse 246,  $C_{17}H_{26}O$ , die durch Ketenabsplattung aus den primären Wasserabspaltungsprodukten der Masse 288 entstehen ( $m^* = 211$ ).

Verbindung 8 zeigt im Vergleich zu 7 eine viel höhere Neigung zur Eliminierung von Wasser aus dem Ion der Masse 262, so dass sein Spektrum durch ein relativ intensives Bruchstück der Masse 244 ausgezeichnet ist.

Für Verbindungen, die das Strukturelement 11 enthalten, ist, wie bereits gezeigt wurde<sup>1</sup> und später noch ausführlicher diskutiert wird,<sup>6</sup> das Auftreten von Schlüsseldifferenzen, die eine Verlust von 72 Masseneinheiten aus bereits entstandenen Abbauprodukten entsprechen, oft ein charakteristisches Merkmal. Überraschenderweise kommen diese, dem Verlust von  $H_2O$  und Butadien entsprechenden Abbaureaktionen hier nur wenig zur Geltung, wie die geringe Intensität der Ionen der Masse 174 im Spektrum von 7 andeutet.



II

Während zwischen 7 und 8 wegen der unterschiedlichen Intensität der Fragmente der Masse 244 und 262 differenziert werden kann, ist dies auch bei sorgfältiger Registrierung der Spektren von 9 und 10 kaum möglich. In diesem Fall wird die Konfigurationsbestimmung der Hydroxylgruppe in der Stellung 3 durch andere Methoden erfolgen müssen.

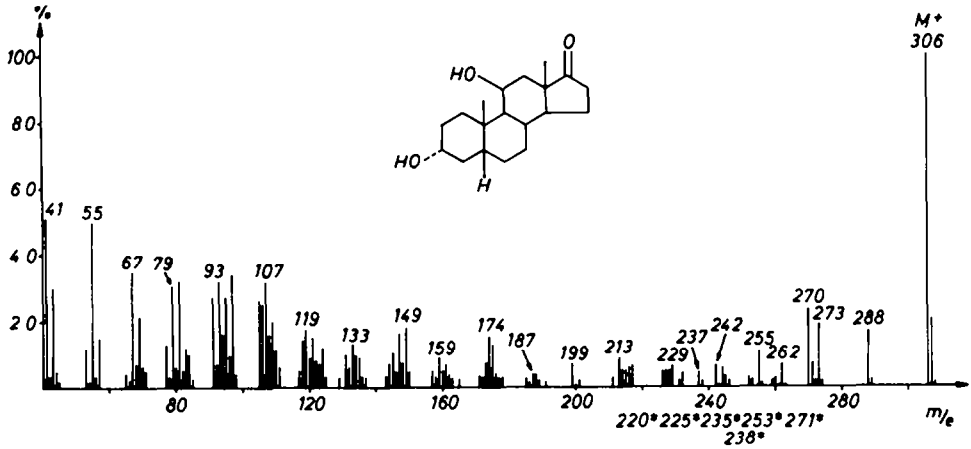


ABB. 5. Massenspektrum des 3α,11β-Dihydroxy-5β-androstan-17-ons (7)

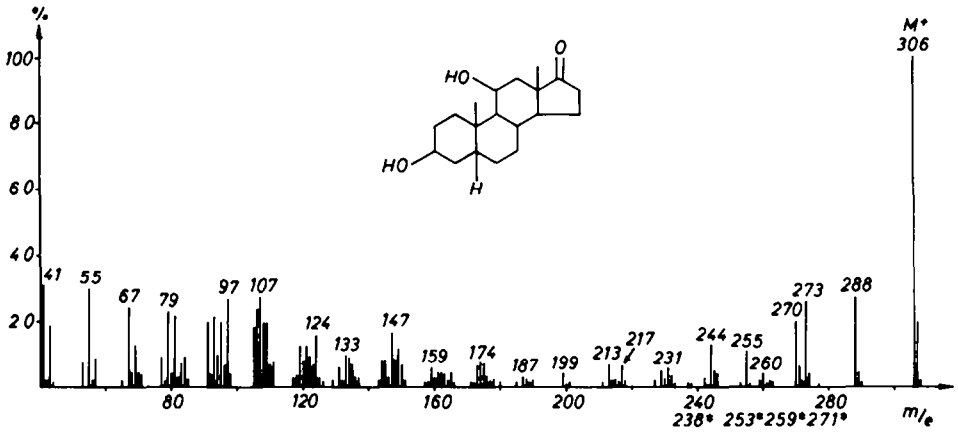


ABB. 6. Massenspektrum des 3β,11β-Dihydroxy-5β-androstan-17-ons (8)

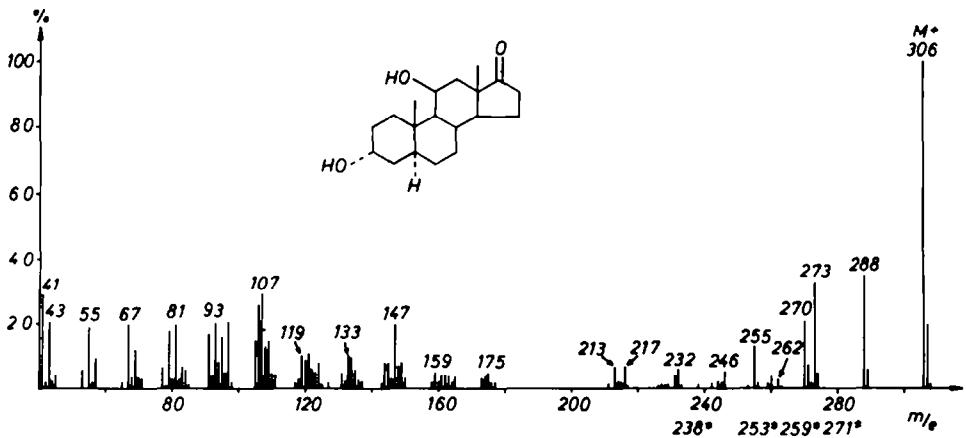


ABB. 7. Massenspektrum des 3α,11β-Dihydroxy-5α-androstan-17-ons (9)

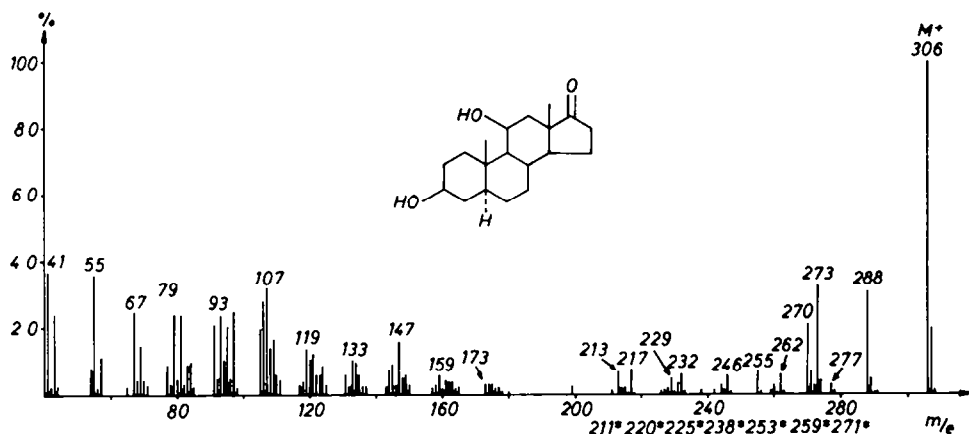


ABB. 8. Massenspektrum des 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-ons (10)

### EXPERIMENTELLER TEIL

1. *Aufnahme der Massenspektren.* Die Massenspektren wurden mit einem Varian-MAT CH4 Massenspektrometer, versehen mit einer EB4 Ionenquelle, durch direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle aufgenommen. Die Elektronenenergie betrug 70 eV, die Ionenquellentemperatur wurde zwischen 100 und 110° gehalten. Die Verdampfungstemperatur der Proben betrug 70 bis 80°. Die exakten Bruttoformeln wurden durch peak-matching auf einem SM-1B Massenspektrometer der Firma Varian MAT bestimmt.

Für die Ausführung der Messungen sind wir Dr. G. Remberg zu grossen Dank verpflichtet.

2. *Herstellung der Steroidproben.* Verbindungen 1 und 2 erhielten wir wie folgt: 100 mg 11 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -androstan-3,17-dion (dieses wurde, wie in der vorhergehenden Mitteilung<sup>1</sup> beschrieben, durch Oxydation von 11 $\alpha$ , 17 $\alpha$ , 21-Trihydroxy pregn-4-en 3,20-dion<sup>7</sup> mit NaBiO<sub>3</sub>, nachfolgende Hydrierung mit Pd/CaCO<sub>3</sub> und Isomerentrennung gewonnen) wurden in methanolischer Lösung mit 5 mg NaBH<sub>4</sub> versetzt und 20 Min. bei Raumtemp. gerührt.<sup>8</sup> Nach Zusatz von 0.1 ml Eisessig und Wasser wurde mit Äther extrahiert, dann die ätherische Lösung getrocknet und eingedampft. Der erhaltene Rückstand wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie (Kieselgel Merck HR, Stufentechnik, Laufmittel: Äther, Äther + 1% Methanol, Äther + 2% Methanol, Äther + 4% Methanol, Äther + 6% Methanol) aufgearbeitet. Die erste Zone (von der Laufmittelfront gerechnet) bestand aus dem gewünschten 2 Smp. 192–193°, aus Aceton, die zweite Zone aus 11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-3-on, die dritte Zone (Hauptmenge, 20 mg) aus dem gewünschten 1 Smp. 173°, aus Aceton, die vierte Zone aus 3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Trihydroxy-5 $\beta$ -androstan, die fünfte Zone aus 3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Trihydroxy-5 $\beta$ -androstan.

Zur Darstellung von 6<sup>9</sup> wurden 20 mg 11 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -androstan,3,17-dion (Darstellung siehe<sup>1</sup>) wie oben beschrieben mit NaBH<sub>4</sub> reduziert.<sup>8</sup> Die Trennung der Reaktionsprodukte erfolgte wieder durch präparative Dünnschichtchromatographie. Die erste Zone (von der Lösungsmittelfront gerechnet) des wie oben ausgeführten Chromatogramms bestand aus 11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-3-on, verunreinigt mit etwas 6, die zweite Zone (Hauptmenge) enthielt das gewünschte 6, die dritte Zone 3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-on, die vierte Zone 3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Trihydroxy-5 $\alpha$ -androstan, die fünfte Zone 3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Trihydroxy-5 $\alpha$ -androstan.

Sämtliche Produkte wurden gaschromatographisch gereinigt: Varian-Aerograph 1520, ausgestattet mit Flammenionisationsdetektor und Ganzglassystem. Die Proben wurden direkt auf die Säule gespritzt (Chromosorb W, acid washed-CMCS, stationäre Phase: 3% OV 17; Säulentemperatur 245°, Temperatur des Einspritzblockes 260°, Temperatur des Detektorblockes 260°, Trägergas N<sub>2</sub>, 40 cm/Min.). Proben von 6, 7, 8, 9, und 10 erhielten wir von der Firma Ikapfarm.<sup>10</sup> Die Reinheit aller Proben wurde durch Dünnschicht- und Gaschromatographie geprüft.

*Danksagung*—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der chemischen Industrie und der Schering AG Berlin danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

## LITERATUR

- <sup>1</sup> H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Tetrahedron*, vorstehende Mitteilung (II)
- <sup>2</sup> H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Chem. Ber.* **103**, 1497 (1970)
- <sup>3</sup> H. Egger und G. Spiteller, *Mh. Chem.* **97**, 579 (1966)
- <sup>4</sup> G. Jones und C. Djerassi, *Steroids* **10**, 653 (1967)
- <sup>5</sup> H.-W. Fehlhaber, D. Lenoir und P. Welzel. Vorabdruck eines Vortrages, der im September 1970 am Internationalen Massenspektrometriker-Kongress in Brüssel gehalten wurde
- <sup>6</sup> H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Tetrahedron*, folgende Mitteilung
- <sup>7</sup> Herrn Priv.-Doz. Dr. R. Wiechert von der Schering AG, Berlin danken wir für Überlassung dieser Probe
- <sup>8</sup> E. Elisberg, H. Vanderhaeghe und T. F. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 2814 (1952)
- <sup>9</sup> G. Rosenkranz, O. Mancera, F. Sondheimer und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **21**, 1432 (1956)
- <sup>10</sup> Für die Überlassung der Proben, die sich durch hervorragende Reinheit auszeichneten, danken wir Direktor M. Harnik von der Ikapharm, Ramat-Gan, Israel