

ZUR LOKALISIERUNG FUNKTIONELLER GRUPPEN IN STEROIDEN MIT HILFE DER MASSENSPEKTROMETRIE—XII¹

MASSENSPEKTREN VON STEROIDEN MIT CARBONYLFUNKTIONEN IN DEN STELLUNGEN 12 UND 17

E. ZIETZ und G. SPITELLER*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen, Germany

(Received in Germany 3 July 1973; Received in the UK for publication 30 October 1973)

Zusammenfassung—Massenspektren von Steroiden mit Carbonylfunktionen in den Stellungen 12 und 17 sind durch das Auftreten von Schlüsselionen der Masse 110 sowie M-28 (M—CO) gekennzeichnet.

Abstract—Mass spectra of steroids with carbonyl-functions in positions 12 and 17 are characterized by the presence of key ions of mass 110 and M-28 (M—CO).

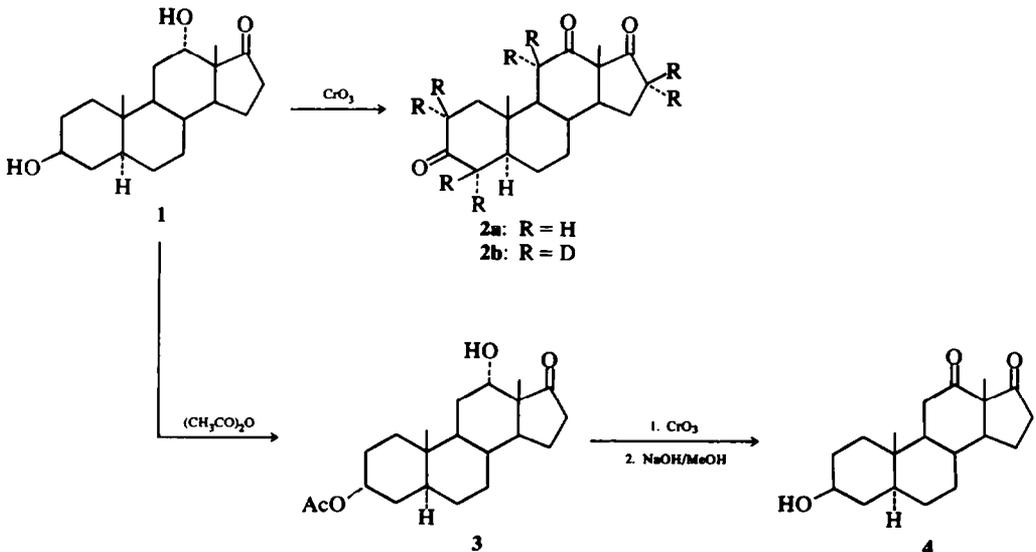
In Fortsetzung unserer Untersuchungen über den massenspektrometrischen Abbau von Steroiden mit drei Sauerstofffunktionen berichten wir hier über Androstanderivate mit Carbonylgruppen in den Stellungen 12 und 17 und Sauerstoffsubstituenten in der Stellung 3.

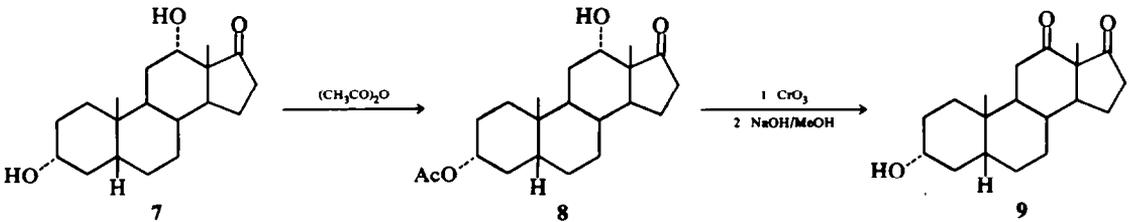
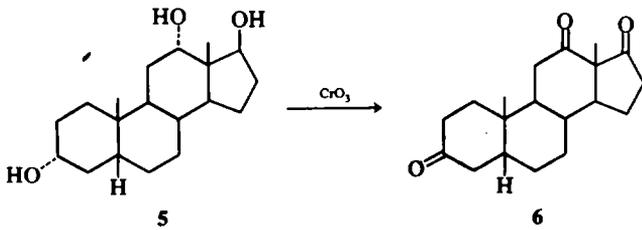
Darstellung der Verbindungen

Ausgangsmaterial für die Verbindungen mit *trans*-verknüpftem A/B-Ringsystem war das 3 β , 12 α -Dihydroxy-5 α -androstan-17-on (1),¹ aus dem durch Oxidation mit Chrom-VI-oxid² das 5 α -

Androstan-3, 12, 17-trion (2a) und nach partiellem Schutz der Hydroxylgruppe in Position 3³ durch Oxidation² und nachfolgende Hydrolyse³ das 3 β -Hydroxy-5 α -androstan-12, 17-dion (4) dargestellt wurde.

5 β -Androstan-3, 12, 17-trion (6) wurde durch Oxidation² von 3 α , 12 α , 17 β -Trihydroxy-5 β -androstan (5)^{1,6} erhalten. Nach partieller Acetylierung³ der 3 α -Hydroxylgruppe von 3 α , 12 α -Dihydroxy-5 β -androstan-17-on (7)¹ wurde mit CrO₃ oxidiert² und zu 3 α -Hydroxy-5 β -androstan-12, 17-dion (9) verseift.³





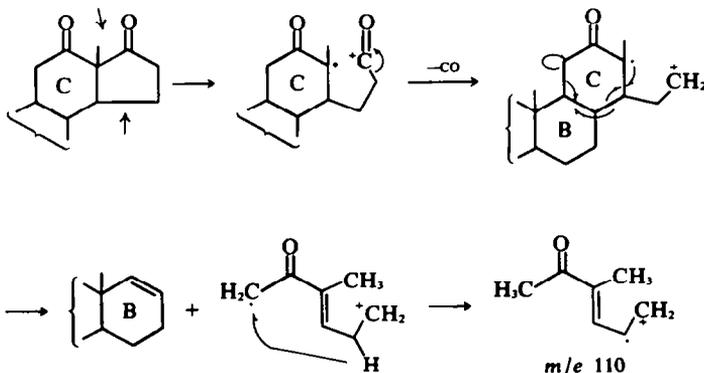
Diskussion der Massenspektren

A. Gemeinsame Spaltreaktionen. Die Massenspektren aller hier beschriebenen Verbindungen, nämlich des 5α -Androstan-3, 12, 17-trions (2a) (Abb 1), des 5β -Androstan-3, 12, 17-trions (6) (Abb 2), des 3β -Hydroxy- 5α -androstan-12, 17-dions (4) (Abb 3) und des 3α -Hydroxy- 5β -androstan-12, 17-dions (9) (Abb 4) sind durch ein Schlüsselion der Masse 110 bedeutender Intensität gekennzeichnet. Da sowohl eine Änderung der Verknüpfung der Ringe A und B als auch eine Änderung der Substitution in der Stellung 3 kaum Einfluss auf die Bildung dieses Bruchstückes hat, ist zu schliessen, dass dieses Spaltstück für das Vorliegen eines Steroids mit Carbonylgruppen in den Stellungen 12 und 17 typisch ist. Die genaue Massebestimmung ergab die Bruttoformel $C_7H_{10}O$ (Gef: 110.0733; Ber: 110.0731). Im Spektrum der Verbindung 2b, in der die Wasserstoffatome in Stellung 11 und 16 gegen Deuterium ausgetauscht wurden, ist das Ion der Masse 110 zur Masse 114 verschoben. Das Fragment der Masse 110 muss daher noch die Kohlenstoffatome 11 und 16 enthalten. Vorausgesetzt, dass bei der Bruchstückbildung keine Skelettumlagerung erfolgt, sollte daher das Spaltstück aus

den C-Atomen 11 bis 16 und 18 bestehen, wobei C-17 als CO eliminiert worden ist. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht die Gegenwart relativ intensitätsstarker Ionen, die den Verlust von CO aus den Molekülonen anzeigen.

Wir nehmen an, dass primär die Bindung zwischen C-13 und C-17 unter Verbleib der positiven Ladung an der Carbonylgruppe gespalten wird. Im Anschluss daran könnte CO eliminiert werden und dann durch Spaltung weiterer Bindungen, wie unten formuliert, ein zunächst instabiles Ion der Masse 110 entstehen, das sich durch radikalische Wasserstoffverschiebung in ein stabiles isomeres Ion umlagert. Charakteristisch für alle Verbindungen ist ferner das Auftreten von jeweils um 13 Masseneinheiten schwereren und leichteren Begleitonen der Masse 97 und 123.

B. Unterscheidung der Isomeren. Während im Falle des 3β -Hydroxy- 5α -androstan-12, 17-dions (4) (Abb 3) nur die eben beschriebenen Spaltreaktionen Anlass zur Bildung von Schlüsselionen geben, finden sich in dem Spektrum der isomeren Verbindung, dem 3α -Hydroxy- 5β -androstan-12, 17-dion (9) (Abb 4), noch weitere Schlüsselionen: In 9 ist wegen des Vorhandenseins



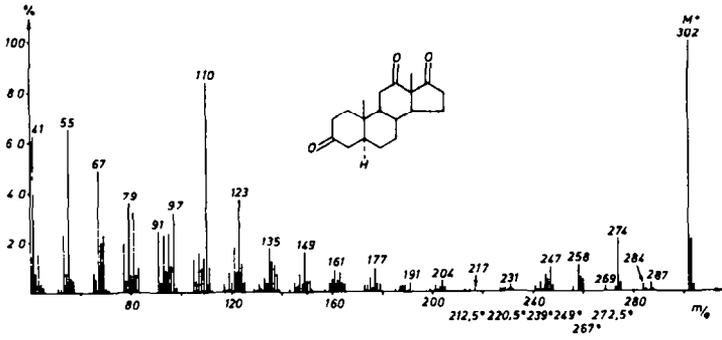


Abb 1. 5 α -Androstan-3,12,17-trion (2a).

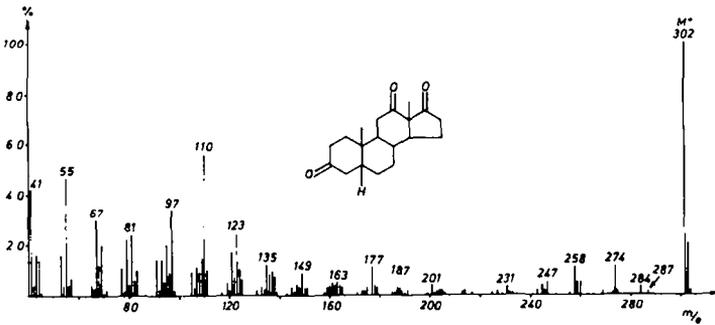


Abb 2. 5 β -Androstan-3,12,17-trion (9).

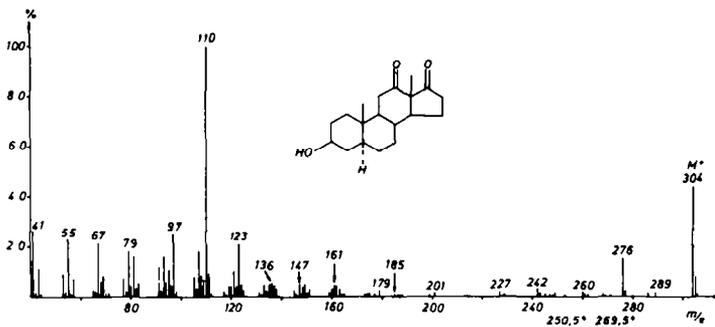


Abb 3. 3 β -Hydroxy-5 α -androstan-12,17-dion (4).

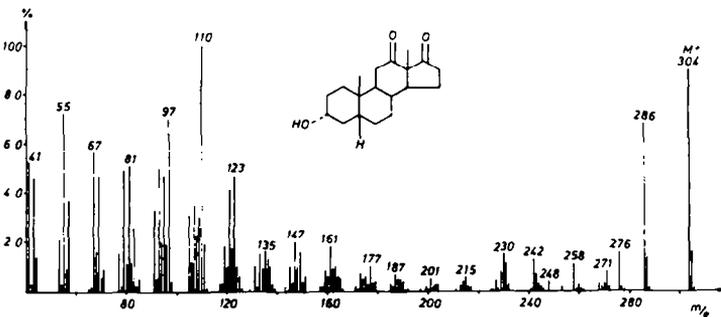
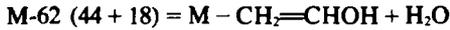
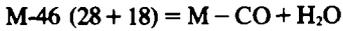


Abb 4. 3 α -Hydroxy-5 β -androstan-12,17-dion (9).

der 3 α -ständigen Hydroxylgruppe in einem cis-verknüpften A/B-Ringsystem die Wassereeliminierung sehr begünstigt.¹¹ Diese Tendenz zur Wassereeliminierung wird nicht nur am zusätzlichen Auftreten eines M-18-Fragmentes erkannt, sondern auch an der Gegenwart von Ionen, die durch Wasserabspaltung aus Abbauprodukten, die den D-Ring betreffen, entstehen:¹¹⁻¹⁴



Diese Spaltstücke entstehen durch Verlust von C-17, C-16 und C-17 sowie C-15, C-16 und C-17 (Abb 4).

Wesentlich schwieriger ist die Unterscheidung der beiden Triketoverbindungen **2a** und **6**. Da in beiden Fällen die Carbonylgruppen in Stellung 12 und 17 die Abbaureaktionen beherrschen, wirkt sich die unterschiedliche Ringverknüpfung nur bezüglich der Intensitätswerte aus: Im Spektrum des Isomeren **6** erreichen die M-44-Ionen, die den Verlust von C-17 und C-16 anzeigen, etwa gleiche Intensität wie die Ionen bei M-28 (M-CO) (Abb 2), während im Isomeren **2a** der Verlust von CO begünstigter ist (Abb 1). Auch das Ausmass der Eliminierung von C-15, C-16 und C-17 als C₃H₃O ist unterschiedlich stark.

EXPERIMENTELLER TEIL

Aufnahme der Massenspektren

Die Massenspektren wurden mit einem Varian-MAT-CH 4-Massenspektrometer durch direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle E-4B aufgenommen. Die Elektronenenergie betrug 70 eV, die Ionenquellentemperatur 80–100°. Die Verdampfungstemperatur der Proben lag zwischen 110° und 150°. Die Bruttoformeln wurden durch "peak-matching" mit einem SM 1-B-Massenspektrometer der Fa. Varian bestimmt. Wir danken Dr. G. Remberg für die Ausführung dieser Messungen.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Zur präparativen Trennung und Reinigung wurde Kieselgel HR der Fa. Merck in 0.25 mm Schichtdicke verwendet. Es wurde jeweils eine Kombination von Stufen- und Mehrfachchromatographie⁴ angewandt. Die Laufmittelmische sind bei den Beschreibungen der Verbindungen angegeben. Die analytische DC wurde durchweg auf Kieselgel H der Fa. Merck (Schichtdicke 0.25 mm) ausgeführt. Besprüht wurde mit Anisaldehyd/Schwefelsäure in Eisessig.

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind unkorrigiert.

Darstellung der Verbindungen

5 α -Androstan - 3, 12, 17 - trion (2a) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (1). 60 mg **1** wurden in 0.7 ml Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 53 mg CrO₃ in 10.5 ml Eisessig und 0.15 ml H₂O versetzt.² Nach 24-stündigem Stehen im Dunkeln bei Raumtemperatur wurde mit Wasser verdünnt und mit Essigester

ausgeschüttelt. Es wurden 51 mg Rohprodukt erhalten. Nach Umkristallisieren aus Essigester verblieben 27 mg (45%) Reinprodukt **2**. Schmp.: 182–184° (Essigester) (Lit.:² 165/178–181° und¹⁰ 179–181°); R_f-Wert 0.49 (Laufmittel CHCl₃/Aceton 75:25).

5 β - Androstan - 3, 12, 17 - trion (6) aus 3 α , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstan (5). 30 mg **5'** wurden in 0.3 ml Eisessig gelöst und mit 25 mg CrO₃ in 0.07 ml H₂O und 5 ml Eisessig versetzt.² Nach 24-stündigem Stehen bei Raumtemperatur wurde mit Wasser verdünnt und mit Essigester ausgeschüttelt. Es fielen 23 mg kristallines Rohprodukt an, das durch DC getrennt und gereinigt wurde (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 90:10). Es wurden 9 mg (30%) **6** isoliert. Schmp.: 276–279° Zers. (Aceton) (Lit.:⁷ 276–280° und⁸ 268–270°); R_f-Wert 0.62 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 80:20).

3 β - Acetoxy - 12 α - hydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (1). 73 mg **1'** wurden in 10 ml Pyridin gelöst und mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt.³ Nach 1/2 Stunden Stehen bei Raumtemperatur wurde auf dem Wasserbad (60°) im Vakuum nahezu zur Trockne eingedampft, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 75 mg farbloses Öl als Rohprodukt erhalten, das durch DC getrennt wurde (Laufmittelmisch: CHCl₃/Aceton 95:5, 80:20). Es wurden folgende Verbindungen isoliert: 2 mg Ausgangsverbindung **1**; 26 mg (32%) **3**, Schmp.: 192–193° (Aceton) (Lit.:⁹ 192–193°); R_f-Wert 0.45 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25); 32 mg **3 β , 12 α - Diacetoxy - 5 α - androstan - 17 - on.**^{6,9}

3 β - Hydroxy - 5 α - androstan - 12, 17 - dion (4) aus 3 β - Acetoxy - 12 α - hydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3). 25 mg **3** wurden in 0.3 ml Eisessig gelöst und mit 11 mg CrO₃ in 0.04 ml H₂O und 2.2 ml Eisessig versetzt.³ Nach 24-stündigem Stehen wurde wie üblich aufgearbeitet. Das anfallende Rohprodukt wurde in 2 ml Methanol gelöst und mit einer Lösung von 190 mg NaOH in 2 ml H₂O und 40 ml Methanol bei Raumtemperatur behandelt.² Nach 48 Stunden wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand mit Äther/Essigester aufgenommen und mit Wasser neutral gewaschen. Das isolierte Rohprodukt wurde durch DC gereinigt (Laufmittelmisch: CHCl₃/Aceton 75:25). Ausbeute 6 mg (29%) **4** Schmp.: 134–136° (Essigester) (Lit.:¹⁰ 127–129°); R_f-Wert 0.29 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25).

3 α - Acetoxy - 12 α - hydroxy - 5 β - androstan - 17 - on (8) aus 3 α , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstan (5). 65 mg **5'** wurden in 0.2 ml Pyridin gelöst und mit 2.8 ml Essigsäureanhydrid versetzt.³ Nach 1 Stunde 50 Minuten (DC-Kontrolle) wurde mit Essigester aufgenommen und mit Wasser ausgeschüttelt. Das Rohprodukt wurde durch DC getrennt (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 90:10, 80:20). Ausbeute 25 mg (34%) **8** Schmp.: 163–166° (Aceton/Hexan) Lit. Schmp.:⁷ 167.5–168.5°. R_f-Wert 0.53 (Laufmittel CHCl₃/Aceton 80:20).

3 α - Hydroxy - 5 β - androstan - 12, 17 - dion (9) aus 3 α - Acetoxy - 12 α - hydroxy - 5 β - androstan - 17 - on (8). 24 mg **8** wurden in 0.1 ml Eisessig gelöst und mit 25 mg CrO₃ in 0.1 ml H₂O und 5 ml Eisessig behandelt.² Nach 24 Stunden wurde mit Wasser versetzt und aufgearbeitet. 25 mg Rohprodukt wurden in 2 ml Methanol aufgenommen und zu einer Lösung von 2 ml 2n NaOH in 20 ml Methanol gefügt.⁴ 4 Stunden wurde unter Rückfluss erhitzt, danach wurden 14 mg Rohprodukt isoliert, das durch DC gereinigt wurde (Laufmittel CHCl₃/Aceton 80:20). Ausbeute 10 mg (46%) **9** Schmp.: 200/240–241° (Aceton). R_f-Wert 0.3 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25); MS

(hochaufgelöst): $C_{19}H_{28}O_3$, Gef.: 304·2043; Ber.: 304·2038. 2, 2 - 4, 4 - 11, 11 - 16, 16 α_1 - 5 α - Androstan - 3, 12, 17 - trion (2b) aus 5 α - Androstan - 3, 12, 17 - trion (2a). 1 mg 2a wurde in 10 ml CH_3OD gelöst und zu 1 ml D_2O , der eine Spatelspitze PCl_5 enthielt, gegeben.¹⁵ Nach dreitägigem Erhitzen unter Rückfluss bei Ausschluss von Luftfeuchtigkeit wurde mit Pyridin alkalisiert, mit Äther verdünnt und mit Wasser gewaschen. Der eingedampfte Rückstand wurde im Massenspektrometer untersucht.

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

LITERATUR

- ¹E. Zietz und G. Spiteller, XI. Mitt. *Tetrahedron* (1974)
²S. Lieberman, E. R. Katzenellenbogen, R. Schneider, P. E. Studer und K. Dobriner, *J. Biol. Chem.* **205**, 87 (1953)
³I. E. Bush, *The Chromatography of Steroids*, Pergamon Press, Oxford, S. 358 (1961)
⁴K. Randerath, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1962)
⁵S. Noguchi und D. K. Fukushima, *J. Org. Chem.* **30**, 3552 (1965)
⁶L. H. Sarett, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 2899 (1947)
⁷H. Reich, *Helv. Chim. Acta* **28**, 863 (1945)
⁸W. J. Adams, D. K. Patel, V. Petrow und I. A. Stuart-Webb, *J. Chem. Soc.* 1825 (1954)
⁹T. Nambara, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **12**, 1253 (1964)
¹⁰W. J. Adams, D. N. Kirk, D. K. Patel, V. Petrow und I. A. Stuart-Webb, *J. Chem. Soc.* 2298 (1954)
¹¹H. Egger und G. Spiteller, *Mh. Chem.* **97**, 579 (1966)
¹²H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1430 (1962)
¹³G. Jones und C. Djerassi, *Steroids* **10**, 653 (1967)
¹⁴L. Tökés, R. T. LaLonde und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **32**, 1012 (1967)
¹⁵J. Seibl und T. Gäumann, *Helv. Chim. Acta* **46**, 2857 (1963)