

УДК 543.510 : 541.63

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНФИГУРАЦИИ СТЕРОИДНЫХ СПИРТОВ

Н. С. Вульфсон, В. И. Зарецкий и В. Г. Заикин

На примере большого числа эпимерных вторичных спиртов ряда 3-, 11-, 12-, 14-, 15-, 16-, 17-, 20-, и 24-оксистероидов, производных андростана, прегнана или холестана, а также эпимерных по 17-му центру третичных спиртов ряда эстрана показано, что во всех случаях, когда окси-группа находится в конформационно достаточно жесткой части стероидного скелета, масс-спектрометрический метод может с успехом применяться для установления конфигурации стероидных спиртов. При этом основные выводы могут быть сделаны на основании того, что в большинстве случаев аксиальная оксигруппа элиминируется под электронным ударом в виде воды легче, чем экваториальная, вследствие возможности протекания механизма 1,3- или 1,4-цис-диаксиального отщепления элементов воды.

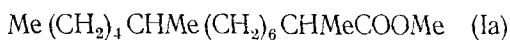
Библиография — 31 наименование.

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение	272
2. Механизм дегидратации спиртов под электронным ударом	273
3. 3-Оксистероиды	274
4. 11-Оксистероиды	277
5. 12-Оксистероиды	277
6. 16-Оксистероиды	278
7. 15-Оксистероиды	279
8. 17-Оксистероиды	280
9. 20- и 24-Оксистероиды	281
10. Третичные спирты D-гомо-ряда	281
11. Третичные спирты нормального ряда	283
12. 14-Оксистероиды	284

I. Введение

Масс-спектрометрия, широко применяемая для решения структурных вопросов органической химии и, особенно, химии природных соединений, до настоящего времени лишь ограниченно применяется для решения стереохимических проблем. Это в первую очередь связано с тем, что внутренние энергии стереоизомеров алифатического ряда равны или отличаются лишь незначительно. В результате этого масс-спектры оптических антиподов обычно бывают не только идентичны друг другу, но и спектру их рацемической смеси¹. Появление двух или более асимметрических C-атомов иногда уже вызывает различия, хотя и слабые, в масс-спектрах диастереомеров. Так, Рихаге и Стенхаген² наблюдали небольшие различия в масс-спектрах диметиловых эфиров мезо- и (—)-3,4-диметилдипиновых кислот (I) и метиловых эфиров, 2*L*, 9*L*- и 2*L*, 9*D*-диметилтетракозановых кислот (Ia):



Как и следовало ожидать, различия в масс-спектрах стереоизомеров алициклического ряда проявляются более резко, причем тем значитель-

нее, чем больше конформационная устойчивость циклической системы. При этом, в зависимости от природы заместителя, его пространственного расположения и характера несвязанных взаимодействий, разница в величине внутренней энергии молекулы эпимеров может существенно меняться, что в свою очередь, приводит к изменению интенсивностей характеристических пиков масс-спектра.

Различия масс-спектров циклических эпимеров в первую очередь обусловлены различием в легкости элиминирования заместителей у асимметрического атома, причем этот процесс часто сопровождается выбросом атома водорода (отщепление H_2O , H_2S или CH_3COOH в случае спиртов, тиоспиртов или ацетатов, соответственно). Поэтому, несмотря на то, что все пути фрагментации под электронным ударом одного эпимера, как правило, характерны и для другого, интенсивности соответствующих пиков ($M-CH_3$, $M-H_2O$, $M-H_2S$, $M-CH_3COOH$ и т. д.) различны. Помимо чисто энергетического фактора, не меньшую роль может играть степень участия мигрирующего атома водорода или группы атомов в специфическом для данного соединения перегруппировочном процессе. В этом случае интенсивность пика соответствующего перегруппировочного иона, как правило, зависит от расстояния между атомом-донором и атомом-акцептором водорода.

Суммируя сказанное, можно сделать следующий вывод: различия в характере распада молекулярных ионов эпимеров под электронным ударом в конечном итоге обусловлены влиянием двух факторов — энергетического и так называемого «фактора расстояния»^{3, 4}.

В одной из первых работ по масс-спектрометрическому исследованию эпимерных циклических спиртов Бимани и Сейбл⁵ на примере вторичных эпимерных спиртов в ряду бицикло[3,3,0] октанола-2, бициклических терпенов и стероидов показали, что в масс-спектре эпимера с более «тесной» конфигурацией молекулы пик молекулярного иона имеет меньшую интенсивность, нежели в спектре менее «тесного» эпимера.

Прежде чем перейти к детальному рассмотрению работ по масс-спектрометрии стероидных спиртов, следует остановиться на вопросе о механизме дегидратации спиртов в условиях масс-спектрометрирования.

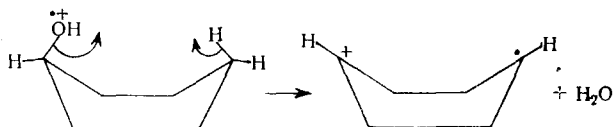
2. Механизм дегидратации спиртов под электронным ударом

В работах Момини⁶, Мак-Фаддена с сотр.^{7, 8}, Мейерсона и Лейча⁹, а также Бенца и Биманна¹⁰ с помощью дейтероаналогов в ряду нормальных алифатических спиртов показано, что в процессе дегидратации под электронным ударом ~90% атомов водорода уходит из положения 4, т. е. предпочтительным является механизм дегидратации, протекающий через шестичленное переходное состояние.

Еще в работах Наталиса^{11, 12} на примере 2,5- D_4 -циклопентанола было показано, что дегидратация молекулярного иона этого соединения протекает с сохранением всех атомов дейтерия и сделано предположение, что в случае циклоалканолов скорее всего имеет место процесс 1,3-*цис*-диаксимального элиминирования воды. Более строго этот вопрос изучил Шеннон с сотр.¹³ и Джерасси с сотр.¹⁴.

На примере 2,2,6,6- D_4 - и 1,4,4- D_3 -циклогексанола Шеннон¹³ показал, что дегидратация молекулярного иона циклогексанола (в условиях, включающих хаотическую миграцию атомов водорода) протекает по типу 1,3- и 1,4-элиминирования в соотношении 0,7:1. Если последний процесс протекает без предварительного раскрытия цикла, то следует допустить,

что молекулярный ион циклогексанола имеет конформацию ванны (речь конечно идет о реакционной конформации):

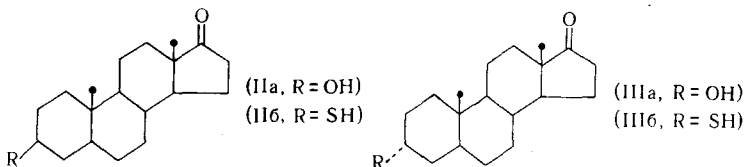


В этом случае *транс*-циклогександиол-1,4 должен легче дегидратироваться под электронным ударом, нежели его *цис*-изомер. Действительно, в спектре *транс*-1,4-D₂-циклогександиола-1,4 величина пика иона (M—DOH)⁺ в 8 раз больше аналогичного пика в спектре *цис*-диола.

С помощью масс-спектров дейтеропроизводных циклогексанола, содержащих дейтерий в различных положениях Джерасси¹⁴ подтвердил предложенный 1,3- и 1,4-механизм элиминирования воды. Однако, по его данным, соотношение вероятностей выброса атома водорода из 3- и 4-положений равно 0,5 : 1.

3. 3-Оксистероиды

Как уже отмечалось выше, Биманн и Сейбл⁵ наблюдали существенное различие в масс-спектрах эпимерных стероидных спиртов. Так, по их данным, для эпиандростерона (IIa) с экваториальной 3β-OH-группой отношение интенсивностей пиков I_{M-H₂O}/I_{M+} равно 0,11, а для андростерона (IIIa) 3α-OH-группой — 0,19.



Аналогичная, но еще более четко выраженная закономерность была обнаружена ими и в масс-спектрах ацетатов (IIa) и (IIIa), где элиминирование молекулы уксусной кислоты протекает намного легче для эпимера с аксиальной ацетоксигруппой.

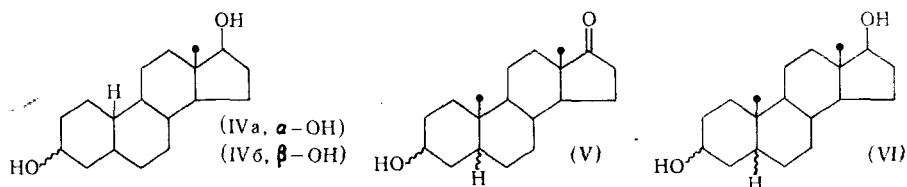
Однако достоверность полученных Биманном и Сейблом данных была поставлена под сомнение работой Эггера и Шпителлера¹⁵. Масс-спектры эпиандростерона (IIIa) и андростерона (IIb), полученные этими авторами при использовании непосредственного ввода образца в ионный источник при 70°, оказались полностью идентичными и не различались соотношением пиков ионов M⁺ и (M—H₂O)⁺. Очевидно, в эксперименте Биманна и Сейбла немалую роль играл термический эффект, так как они работали на приборе с обогреваемой металлической системой напуска. Поэтому их масс-спектры отражали скорее различие в термической дегидратации, нежели в степени дегидратации под электронным ударом.

Независимо от Эггера и Шпителлера¹⁵ масс-спектры эпимерных андростеронов (IIa, IIIa) были изучены Зарецким и Заикиным¹⁶. При использовании системы непосредственного ввода исследуемого вещества в ионный источник* (при температуре на 20—30° ниже температуры плавления вещества) они также не обнаружили различия в масс-спектрах эпимеров. Не оказалось различий и в масс-спектрах их тиоана-

* Во всех работах, обсуждаемых ниже, масс-спектры были получены с использованием прямого ввода образца в ионный источник.

логов (IIб и IIIб). Таким образом, и в случае тиолов механизм отщепления молекулы H_2S под электронным ударом, по-видимому, сходен с механизмом элиминирования воды.

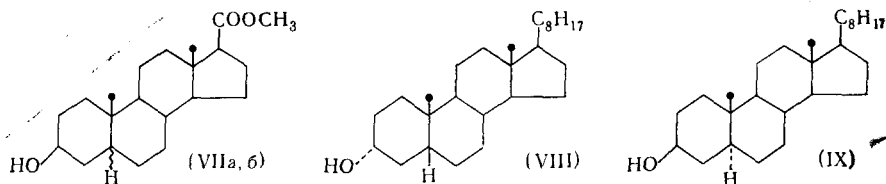
Принимая во внимание результаты, полученные Шенноном¹³ и Джерасси¹⁴, можно предположить, что дегидратация андростерона (IIIа)^{15, 16}, содержащего аксиальную ОН-группу, протекает, главным образом, по типу 1,3-элиминирования. В то же время дегидратация эпиандростерона (IIа) может сопровождаться переходом кольца А в форму ванны, так как в процессе дегидратации получают возможность участвовать также атомы водорода из других колец, находящиеся ближе всего к гидроксильной группе. В конечном итоге это приводит к тому, что величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} в спектрах 3 α - и 3 β -эпимеров практически одинакова. Некоторым подтверждением этой точки зрения могут служить спектры 19-норандростандиола-3 α , 17 β (IVа) и 3 β , 17 β (IVб).



Величина пика иона $(M-H_2O)^+$ в спектре 3 α -ОН-эпимера (IVа) значительно больше величины пика этого иона в случае его 3 β -ОН-эпимера (IVб)¹⁵. Если предположить, что кольцо А в условиях электронного удара находится в форме ванны, то для β -эпимера осуществляется благоприятная возможность 1,4-элиминирования воды с участием 10 β -Н-атома (который, кстати сказать, отсутствует в андростанах с 19- CH_3 -группой). Для стероидов с *цис*-сочленением колец А и В возможен уход атома водорода от $C_{(9)}$ (если кольцо А также находится в форме ванны). В случае спиртов с *транс*-сочленением колец А и В такой возможности нет, поэтому дегидратация спиртов 5 β -ряда по сравнению с их 5 α -эпимерами протекает легче.

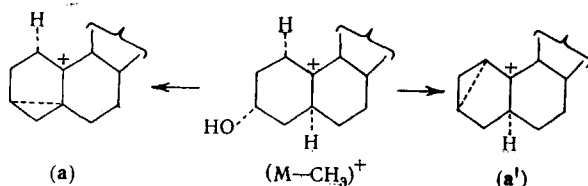
Не наблюдается также различий и в спектрах эпимерных по $C_{(3)}$ андростанон-17-олов-3 (V) и андростандиолов-3,17 β (VI), как 5 α -, так и 5 β -ряда.

Однако спектры изомеров по сочленению колец А и В с одинаковой конфигурацией 3-ОН-группы существенно отличаются: дегидратация под электронным ударом протекает легче в 5 β -ряду. Большая интенсивность пика $M-H_2O$ и меньшая интенсивность пика M^+ наблюдается также и в масс-спектрах метилового эфира 3 β -окси-5 β -этиановой кислоты (VIIа) и копростанола-3 α (VIII) по сравнению с их стереоизомерами — метиловым эфиром 3 β -окси-5 α -этиановой кислоты (VIIб) и холестанолом-3 β (IX), соответственно¹⁵:



Вопросу выяснения механизма элиминирования воды под электронным ударом в случае эпимерных холестеранолов-3 посвящена работа Дже-

расши с сотр.¹⁷ Для того, чтобы исключить влияние процесса термической дегидратации, предшествующего электронному удару, авторы рассматривают дегидратацию иона $(M-CH_3)^+$, а не молекулярного иона, как это обычно делается. Как показали масс-спектры дейтеропроизводных холестеранола-3 α (см. табл. 1), в образовании иона $(M-CH_3-H_2O)^+$ на 73% участвует Н-атом из 5 α -положения (ион а) и на 7% от C₍₁₎ (ион а'). В случае холестеранола-3 β при образовании иона $(M-CH_3-$



$H_2O)^+$ на 28% уходит Н-атом из положения 1 и на 11% — 5 α -Н-атом (см. табл. 2). Остальная часть атомов водорода, участвующих в процессе дегидратации иона $(M-CH_3)^+$ элиминируется из других колец. Если учесть, что кольцо А находится в форме кресла, то для холестеранола-3 α осуществляется возможное 1,3-диаксиальное отщепления водорода с

ТАБЛИЦА 1

Интенсивность пика иона $(M-CH_3-HDO)^+$
в % от $(M-CH_3-H_2O)^+$ в спектрах
меченых холестеранов-3 α

2,2,4,4-D ₄ -холестанол-3 α	0
1,1,3 β -D ₃ -холестанол-3 α	7 ± 2
1 α -D ₁ -холестанол-3 α	4, 5 ± 2
5 α -D ₁ -холестанол-3 α	73 ± 2

ТАБЛИЦА 2

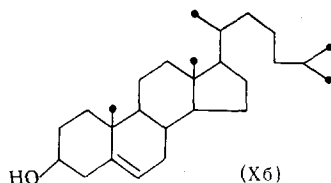
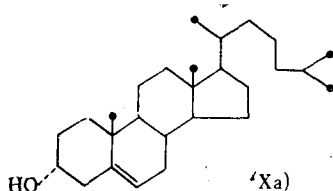
Интенсивность пика иона $(M-CH_3-HDO)^+$
в % от $(M-CH_3-H_2O)^+$ в спектрах
меченых холестеранов-3 β

2,2,4,4-D ₄ -холестанол-3 β	0
3 α -D ₁ -холестанол-3 β	0
5 α -D ₁ -холестанол-3 β	11
1,1-D ₂ -холестанол-3 β	28

участием 5 α -Н-атома. Понятно, что такая возможность отсутствует в молекуле холестеранола-3 β , более вероятным в этом случае является раскрытие кольца А и хаотический выброс Н-атомов из других колец¹⁷.

Как следует из всего сказанного, в случае насыщенных эпимерных 3-оксистероидов, влияние конфигурации при C₍₃₎ на легкость элиминирования воды под электронным ударом невелико.

Введение двойной связи в положение 5—6 стероидной молекулы закрепляет конформацию кольца А, что существенно меняет картину. Действительно, масс-спектры элихолестерина (Ха) и холестерина (Хб)¹⁶ различаются соотношением интенсивностей пиков ионов $(M-H_2O)^+$ и M^+ .

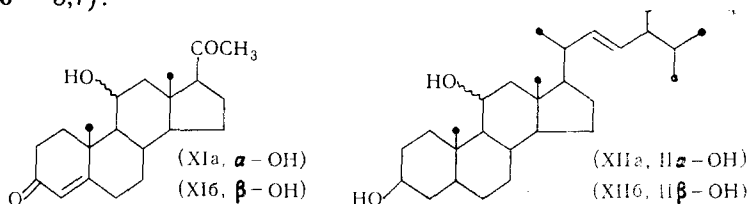


В случае Ха (аксиальная ОН-группа) величина пика иона $(M-H_2O)^+$ составляет 90% от интенсивности пика M^+ , тогда как в спектре Хб (экваториальная ОН-группа) соответствующая величина равна 50%. Таким образом, если предположить, что элиминирование воды в данном случае

протекает как процесс 1,3-элиминирования (с участием водорода от C₍₁₁₎), то элиминирование аксиальной 3 α -ОН-группы протекает легче, вследствие 1,3-*цис*-диаксиального расположения элиминирующихся групп.

4. 11-Оксистероиды

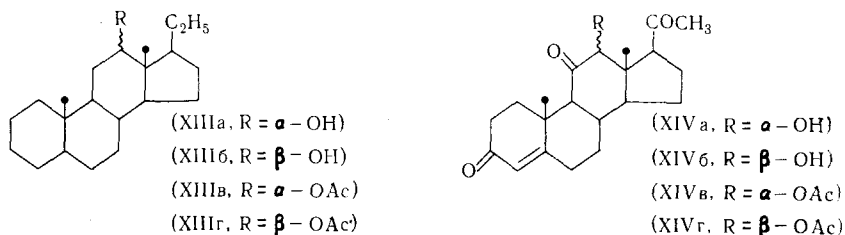
В отличие от 3-оксистероидов, масс-спектры стероидных спиртов, содержащих ОН-группу в конформационно закрепленных кольцах, резко отличаются друг от друга, в первую очередь, величиной отношения интенсивностей пиков I_{M-H_2O}/I_{M^+} . Сравнение масс-спектров прогестерона-11 α (XIa) и -11 β (XIб) ¹⁸⁻²⁰, показывает что спирт (XIб), молекула которого содержит аксиальную ОН-группу, легко элиминирует молекулу воды под электронным ударом, тогда как молекулярный ион его эписмера (XIa), содержащего экваториальную ОН-группу, более стабилен и дегидратируется в меньшей степени (для XIa отношение $I_{M-H_2O}/I_{M^+} = 0,7$, а для XIб — 5,7).



Масс-спектры Δ^{22} -эргостендиола-3 β ,11 α (XIIa) и -3 β ,11 β (XIIб), изученные Фитчесом ²¹, также отличаются соотношением величины пиков $M-H_2O$ и M^+ . В спектре 11 α -эписмера XIIa (экваториальная ОН-группа) отношение I_{M-H_2O}/I_{M^+} значительно меньше, чем в случае 11 β -эписмера XIIб (аксиальная ОН-группа).

5. 12-Оксистероиды

Были изучены масс-спектры прегнанола-12 α (XIIIa) и -12 β (XIIIб), их ацетатов (XIIIв и XIIIг), Δ^4 -прегнентрион-3,11,20-ола-12 α (XIVa) и -12 β (XIVб), а также ацетатов последних (XIVв и XIVг) ¹⁶. Прегнаблы-12 (XIIIa, б) легко дегидратируются под электронным ударом [в обоих случаях пик иона $(M-H_2O)^+$ значительно больше пика M^+]. Однако величины отношений I_{M-H_2O}/I_{M^+} в спектрах эписмеров сильно отличаются. Как было отмечено и для прогестеронолов-11, аксиальная ОН-группа в ряду прегнанолов-12 также элиминируется легче.



Любопытным в масс-спектрах XIIIa и XIIIб является различие в интенсивности пика с m/e 257, отвечающего выбросу C_2H_5 -радикала из иона $(M-H_2O)^+$. Интенсивность этого пика значительно выше в спектре XIIIa. Можно ожидать, что вследствие *цис*-расположения 12 β -ОН и 17 β -Et-группы отщепление воды из молекулярного иона прегнанола-12 β сопровождается, по крайней мере частично, уходом атома водорода из

боковой цепи, тогда как 17β -Et-группа, находящаяся в *транс*-положении к 12α -ОН-группе, в процессе дегидратации молекулярного иона прегнанола- 12α не участвует. Этим обстоятельством, по-видимому, и обусловлено уменьшение интенсивности процесса элиминирования Et-группы из иона $(M-H_2O)^+$ в случае XIIIб.

Масс-спектры ацетатов (XIIIв и XIIIг) мало отличаются друг от друга. Оба эпимера настолько легко отщепляют молекулу AcOH под электронным ударом, что зарегистрировать пик молекулярного иона не

ТАБЛИЦА 3

Величина отношения $I_{M-H_2O(AcOH)}/I_{M^+}$
в масс-спектрах XIIIа,б и XIVа—г

Соединение	$I_{M-H_2O(AcOH)}/I_{M^+}$	Соединение	$I_{M-H_2O(AcOH)}/I_{M^+}$
XIIIа	57	XIVб	0,6
XIIIб	14	XIVв	7,3
XIVа	0,3	XIVг	4,3

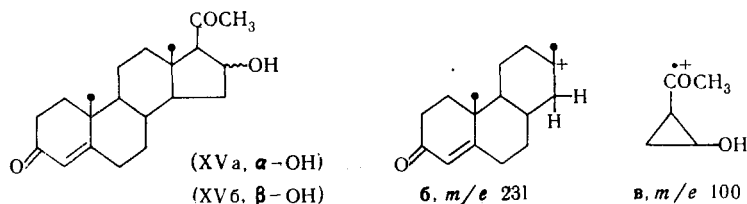
удаётся. Однако распад иона $(M-AcOH)^+$, сопровождающийся выбросом Et-радикала, как и для свободных спиртов, несколько легче протекает в случае 12α -ОН-эпимера.

Описанная для прегнанола-12 зависимость легкости дегидратации под электронным ударом

от конфигурации, не сохраняется в случае Δ^4 -прегнентрион-3,11,20-олов-12 (XIVа и XIVб) ¹⁶. В данном случае вдвое бо́льшая величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} характерна для масс-спектра XIVб (экваториальная ОН-группа) (см. табл. 3). Очевидно, это явление объясняется легкостью таутомеризации α -кетоспиртов в условиях электронного удара в соответствующие 11-окси-12-кето-изомеры. Косвенным подтверждением этого предположения служат масс-спектры ацетатов XIVа,б (XIVв и XIVг), в которых бо́льшая величина пика иона $(M-AcOH)^+$ характерна для 12α -ацетокси-эпимера XIVв (аксиальная ОАс-группа) (см. табл. 3).

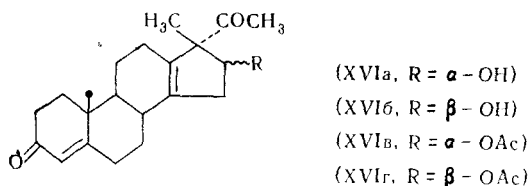
6. 16-Оксистероиды

Изучение масс-спектров прогестеронола- 16α (XVa) и - 16β (XVб) ^{18, 19} показало, что несмотря на то, что оба эпимера легко дегидратируются под электронным ударом, в их спектрах также имеются существенные различия. Во-первых, легкость дегидратации молекулярного иона XVа (16α -ОН-группа) в 3 раза больше, чем его β -эпимера XVб (см. табл. 4).



Это позволяет сделать вывод, что α -связь при $C_{(16)}$ близка по характеру к аксиальной, а β -связь — к экваториальной. Во-вторых, характерной особенностью масс-спектра (XVa) является интенсивный пик иона б с m/e 231, практически отсутствующий в спектре (XVб). Фрагмент б содержит кольца А, В и С и образуется при разрыве связей 13—17 и 14—15 с миграцией атома водорода из положения 16 к заряженному фрагменту. Разрыв тех же связей, но с локализацией заряда на фрагменте, содержащем атомы $C_{(15)}-C_{(17)}$, $C_{(20)}$ и $C_{(21)}$, приводит к иону в с m/e 100, пик которого имеет значительную величину в спектре прогестеронола- 16α (XVa) и практически отсутствует в спектре его 16β -эпимера (XVб).

На основании изложенных данных была определена конфигурация 16-го центра в производных прегнанола-16 (XVIa и XVIб) ¹⁶. В масс-спектре XVIa отношение $I_{M-H_2O}/I_{M^+}=20$, тогда как в спектре XIVб это отношение равно всего лишь 8,7. Поэтому, по аналогии с прогестеронола-ми-16 (XVa, б) спирт (XVIa) должен иметь α -конфигурацию OH-группы, а спирт (XVIб) — β -конфигурацию.



Дальнейшее подтверждение конфигурации 16-го центра было получено при сравнении масс-спектров соответствующих ацетатов (XVIв и

ТАБЛИЦА 5

ТАБЛИЦА 4
 Величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} и интенсивность пиков характеристических ионов (% от Σ) в масс-спектрах XVa,б

Соединение	I_{M-H_2O}/I_{M^+}	Ион б (m/e 231)	Ион в (m/e 100)
XVa	13	4,6	3,2
XVб	4,3	0,65	0,6

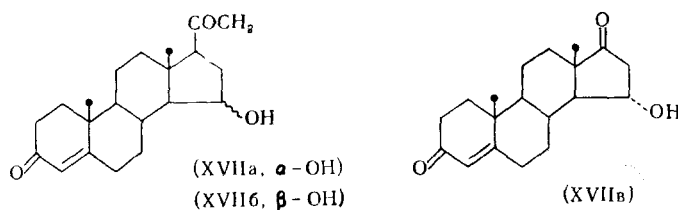
Величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} и интенсивность пиков характеристических ионов (% от Σ) в масс-спектрах XVIIa—в

Соединение	I_{M-H_2O}/I_{M^+}	Ион б (m/e 231)	Ион в (m/e 100)
XVIIa	0,21	0,7	0,3
XVIIб	4,9	3,0	1,3
XVIIв	0,07	0,2	—

XVIг). Прежде всего, в спектрах эпимеров различна величина отношения пиков ионов $(M-AcOH)^+$ и M^+ (для XVIв $I_{M-AcOH}/I_{M^+}=120$, а для XVIг—36). Поэтому ацетат XVIв следует отнести к 16 α -, а его эпимер — XVIг — к 16 β -ряду. В спектре XVIa, б и XVIв, г, кроме того, обращает на себя внимание различие в интенсивности пика иона $(M-COCH_3)^+$. Большая величина этого пика в случае 16 α -OR-эпимеров (XVIa и XVIв) связана, по-видимому, с *цис*-расположением 17 α -COCH₃ и 16 α -OR-групп, что облегчает элиминирование COCH₃-группы при C₍₁₇₎.

7. 15-Оксистероиды

Были изучены масс-спектры прогестеронола-15 α (XVIIa) и -15 β (XVIIб), а также Δ^4 -андростендион-3,17-ола-15 α (XVIIв) ^{18, 19}. Как оказалось, большая величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} характерна для 15 β -ОН-эпимера XVIIб (см. табл. 5). Это объясняется тем фактом, что



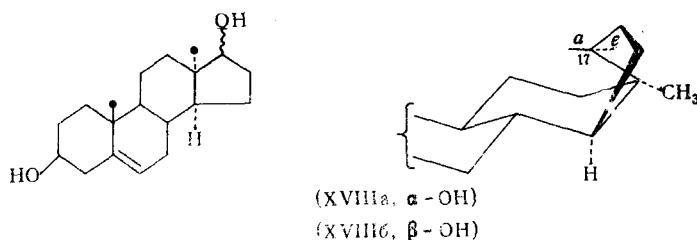
в молекуле XVIIa гидроксильная группа имеет экваториальный, а в молекуле XVIIб — аксиальный характер. Аналогичная картина наблюдает-

ся и в масс-спектре **XVIIb**, в котором интенсивность пика иона $(M-H_2O)^+$ составляет всего 7% от величины пика M^+ , доминирующего в спектре. Характерным отличием масс-спектра **XVIIb**, как и в случае его 16α -ОН аналога **XVa**, является значительная величина пиков ионов **б** и **в**, механизм образования которых сходен с описанным для **XVa**, **б** (см. табл. 5).

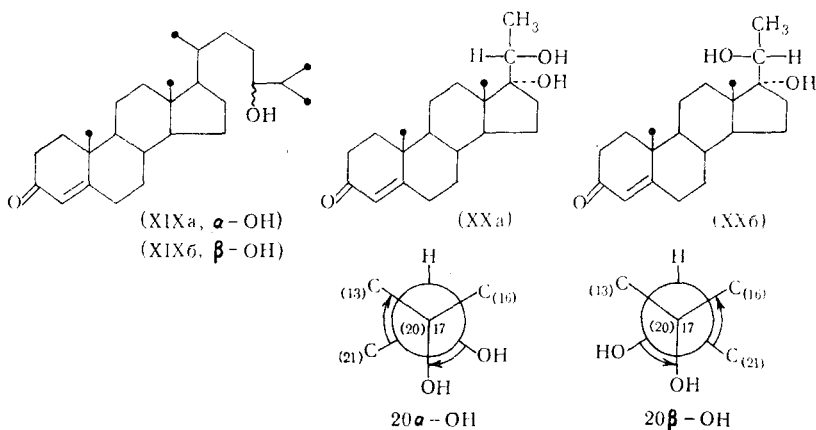
8. 17-Оксистероиды

Поведение эпимерных 17-оксистероидов нормального ряда под электронным ударом не было изучено. Однако следует отметить, что стероиды 17β -окси-ряда (эстрадиол, 19-нортестостерон)²², в которых гидроксильная группа имеет экваториальный характер, элиминируют воду в этих условиях с трудом.

При сравнении масс-спектров эпимерных спиртов 13-изо-ряда: 13-изо- Δ^5 -андростендиола-3 β , 17 α (**XVIIIa**) и -3 β , 17 β (**XVIIIb**)¹⁶.



видно, что дегидратация под электронным ударом протекает по-разному: в масс-спектре **XVIIIa** интенсивность пика M^+ больше пика иона $(M-H_2O)^+$, а в спектре **XVIIIb** наблюдается обратная картина. Это наблюдение вполне согласуется с тем фактом, что в молекуле стероидов 13-изо-ряда α -связь при C_{17} имеет экваториальный, а β -связь — аксиальный характер (по отношению к кольцу C , см. схему выше). Таким



образом, и в данном случае аксиальная гидроксильная группа элиминировалась в виде воды легче, чем экваториальная. Подобная закономерность прослеживается и на ряде других фрагментов, образующихся при распаде молекулярных ионов соединений (**XVIIIa**) и (**XVIIIb**). Так, аналогично изменению величины отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} , при переходе от **XVIIIa** к

XVIII6 меняются величины отношений

$$I_{M-2H_2O}/I_{M-H_2O} \text{ и } I_{M-H_2O-CH_3-H_2O}/I_{M-H_2O-CH_3},$$

$$I_{m/e137}/I_{m/e205} \text{ и } I_{m/e161}/I_{m/e179}.$$

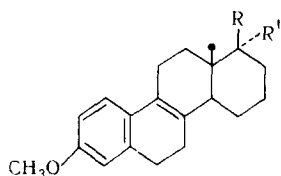
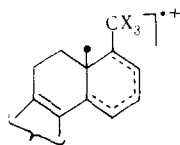
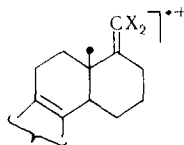
В двух последних случаях ионы с m/e 205 и 179 характерны для стероидов с Δ^5 двойной связью и содержат кольцо C и часть колец A и B ²³⁻²⁵.

9. 20- и 24-Оксистероиды

Как уже отмечалось, масс-спектры эимерных алифатических спиртов с одним асимметрическим центром полностью идентичны друг другу. Сравнение масс-спектров Δ^4 -холестенон-3-ола-24а (XIXа) и -24в (XIXб), содержащих гидроксильную группу в алифатической боковой цепи, показало, что и в данном случае спектры эимеров не различаются. В то же время масс-спектры Δ^4 -прегненон-3-диола-17а, 20а (XXа) и его 20в-ОН-эимера (XXб) существенно отличаются величинами отношений I_{M-H_2O}/I_{M+} , I_{M-2H_2O}/I_{M-H_2O} , а также I_{M-CH_3CHOH}/I_{M+} . Эти отношения существенно больше для XXа. Как видно из рассмотрения молекулярных моделей Дрейдinга, в молекуле 20в-ОН-эимера XXб возможно возникновение водородной связи между 20в-ОН- и 17а-ОН-группами, тогда как в случае 20а-эимера XXа этой возможности реализоваться трудно из-за пространственных препятствий, вызванных сближением 21-CH₃- и ангулярной CH₃-группы при C₍₁₃₎ (см. схему на стр. 280). Образование водородной связи, по-видимому, и является причиной, препятствующей выбросу молекулы воды и CH₃CHOH-радикала из молекулярного иона 20в-ОН-эимера XXб.

10. Третичные спирты D-гомо-ряда

Изучение масс-спектров эимерных третичных спиртов, производных *dl*-3-метокси-17а-алкил- $\Delta^1, 3, 5(10), 8$ -D-гомоэстратетраенола-17а (XXIа, б) и (XXIIа, б) ²⁶⁻²⁸ показало, что различия в спектрах эимеров исключительно велики. Прежде всего в спектрах спиртов с аксиальной гидроксильной группой (XXIа, б) интенсивность пика иона (M—H₂O)⁺ во много раз больше интенсивности пика M⁺, тогда как в случае их эимеров с экваториальной ОН-группой (XXIIа, б) наблюдается обратная картина (см. табл. 6).

(XXIа, R = CH₃, R' = OH)(XXIб, R = C₂H₅, R' = OH)(XXIв, R = CD₃, R' = OH)(XXIг, R = CH₃, R' = OAc)(XXIIа, R = OH, R' = CH₃)(XXIIб, R = OH, R' = C₂H₅)(XXIIв, R = OH, R' = CD₃)(XXIIг, R = OAc, R' = CH₃) $r_1, m/e$ 297, X = D m/e 294, X = H $r_2, m/e$ 296, X = D m/e 294, X = H

Для выяснения механизма дегидратации под электронным ударом были изучены масс-спектры 17а-тридегтерометильных аналогов XXIа и

XXIIa (**XXIb** и **XXIIb**). Сравнение масс-спектров **XXIb** и **XXIIb** (см. рис. 1 и 2) показывает, что легко дегидратирующий эпимер **XXIb** (а следовательно и **XXIa**, б) образуют при дегидратации молекулярного иона практически только ион $(M-H_2O)^+$ с m/e 297 (ион Γ_1). С учетом того, что дегидратация, в основном, протекает по механизму 1,3-элиминирования, скорее всего в данном случае уходит водород от атомов $C_{(16)}$ или $C_{(14)}$. Что касается эпимера **XXIIb** (а, следовательно, и **XXIIa**, б), который отщепляет воду под электронным ударом гораздо труднее, то в данном случае кроме иона Γ_1 образуется ион $(M-DOH)^+$ с m/e 296 [ион Γ_2] с экзоциклической двойной связью. Образование из молекулярного иона **XXIb** фрагмента Γ_1 (а не Γ_2) говорит об аксиальном расположении 17а-ОН-группы (так как только в этом случае возможен уход с ОН-группой одного из аксиальных атомов водорода кольца *D*) и таким образом является новым доказательством конфигурации 17а-центра в молекуле этого соединения. Появление же дуплета пиков $M-H_2O$ и $M-DOH$ в спектре **XXIIb** свидетельствует об α -алкил- ϵ -ОН-конфигурации 17а-центра этого соединения.

ТАБЛИЦА 6

Соединение	Величина отношений I_{M-H_2O}/I_{M^+} и $I_{M-H_2O-(17a-Alk)}/I_{M-H_2O}$ в масс-спектрах XXIa , б и XXIIa , б	
	I_{M-H_2O}/I_{M^+}	$I_{M-H_2O-(17a-Alk)}/I_{M-H_2O}$
XXIa	3,2	2,3
XXIIa	0,4	0,6
XXIb	2,3	3,5
XXIIb	0,2	0,6

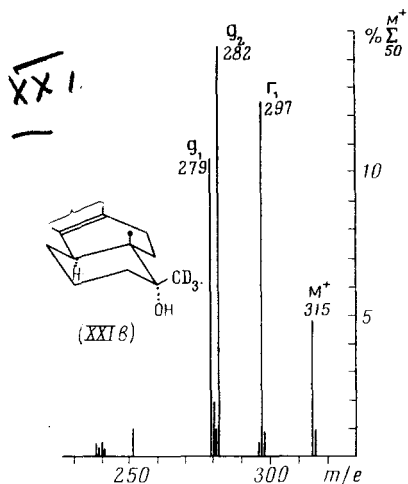


Рис. 1

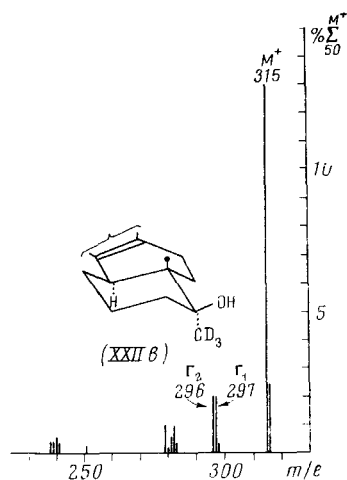
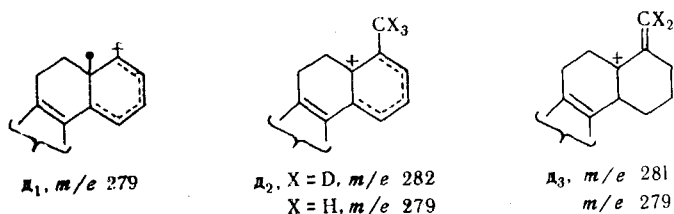


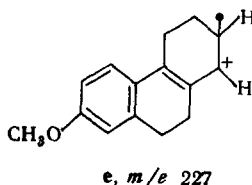
Рис. 2

Масс-спектры **XXIa**, б и **XXIIa**, б отличаются также соотношением интенсивностей пиков ионов $[M-H_2O-(17a-Alk)]^+$ (д) и $(M-H_2O)^+$. В случае эпимеров с аксиальной ОН-группой (**XXIa**, б) интенсивность первого во много раз превышает интенсивность второго, а в случае эпимеров с экваториальной ОН-группой (**XXIIa**, б) наблюдается обратная зависимость (см. табл. 6). Сравнение масс-спектров дейтероаналогов (**XXIb**) и (**XXIIb**) с масс-спектрами немеченых соединений (**XXIa**) и (**XXIIa**) показывает, что пик иона д составной и обусловлен образованием ионов типа d_1 , d_2 и d_3 . Этот пик в спектрах эпимеров с аксиальной ОН-группой отвечает иону d_1 и d_2 ; в случае же спиртов с экваториаль-

ной OH-группой после отщепления воды возможен уход только ангулярной CH_3 -группы (ион d_3), так как присутствие экзоциклической двойной связи в ионе g_2 делает невозможным уход 17а-алкильной группы.



Еще одним из характеристических пиков в масс-спектрах **XXIa, б** и **XXIIa, б**, интенсивность которых зависит от конфигурации эпимера, является пик с $m/e \text{ 227}$ (ион e). В спектре эпимера с экваториальной OH-группой его интенсивность 16% (от Σ_{50}^{M+}), в то время как в спектре эпимера с аксиальной OH-группой—всего лишь 1,2%. Ион e образуется непосредственно из молекулярного иона в результате отрыва кольца *D* и миграции атома водорода из 17а-OH-группы.



Сравнение масс-спектров ацетатов (**XXIг**) и (**XXIIг**)³⁰ доказывает, что аналогично свободным спиртам, элиминирование аксиальной ацетоксигруппы в виде AcOH под электронным ударом протекает легче, чем экваториальной. Масс-спектры **XXIг** и **XXIIг** отличаются также интенсив-

ТАБЛИЦА 7

Величина отношения $I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M+}$ в масс-спектрах XXIIIa, б—XXVa, б			
Соединение	$I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M+}$	Соединение	$I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M+}$
XXIIIa	45	XXIVб	21
XXIIIб	14	XXVa	62
XXIVa	41	XXVб	21

ТАБЛИЦА 8

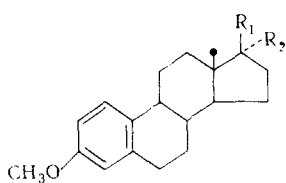
Величины отношений $I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M+}$ и $I_{M-\text{H}_2\text{O}-17\text{Alk}}/I_{M-\text{H}_2\text{O}}$ в масс-спектрах XXVIa, б и XXVIIa, б		
Соединение	$I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M+}$	$I_{M-\text{H}_2\text{O}-17\text{Alk}}/I_{M-\text{H}_2\text{O}}$
XXVIa	36	1,8
XXVIб	17,4	0,3
XXVIIa	21	1,8
XXVIIб	15	0,9

ностью пиков ионов типа d , обусловленных выбросом CH_3 -группы из ионов типа в ($M-\text{AcOH}$)⁺. Аналогично свободным третичным спиртам, пик d является составным и различие в его интенсивности связано с различием в механизме элиминирования уксусной кислоты из молекулярных ионов эпимеров.

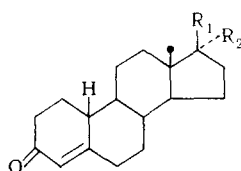
11. Третичные спирты нормального ряда

В отличие от спиртов *D*-гомо-ряда, масс-спектры эпимерных по C_{17} третичных спиртов, производных *dl*-3-метокси-17-алкил- $\Delta^{1,3,5(10)}$ -эстра-триенола-17 (**XXIIIa, б—XXVa, б**) и *dl*-17-алкил-19-нор-тестостерона

(XXVIa, б и XXVIIa, б) ²⁹ в основном сходны и отличаются лишь соотношением интенсивностей пиков ионов $(M-H_2O)^+$ и M^+ . В спектрах спиртов с α -ОН-группой (XXIIIa—XXVa) величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} больше, чем в случае их β -ОН-эпимеров (XXIIIб—XXVб) (см. табл. 7). Этот результат согласуется с общими конформационными пред-



- (XXIIIa, $R_1 = CH_3$, $R_2 = OH$)
 (XXIIIб, $R_1 = OH$, $R_2 = CH_3$)
 (XXIVa, $R_1 = C_2H_5$, $R_2 = OH$)
 (XXIVб, $R_1 = OH$, $R_2 = C_2H_5$)
 (XXVa, $R_1 = CH_2C(=CH_2)CH_3$, $R_2 = OH$)
 (XXVб, $R_1 = OH$, $R_2 = CH_2(=CH_2)CH_3$)



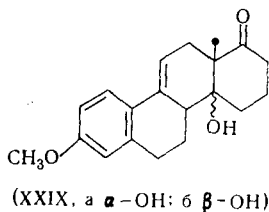
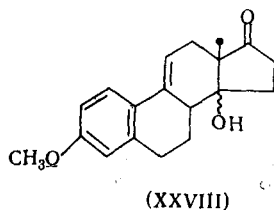
- (XXVIa, $R_1 = CH_3$, $R_2 = OH$)
 (XXVIб, $R_1 = OH$, $R_2 = CH_3$)
 (XXVIIa, $R_1 = C_2H_5$, $R_2 = OH$)
 (XXVIIб, $R_1 = OH$, $R_2 = C_2H_5$)

ставлениями о характере связей при атоме $C_{(17)}$ (α -связь имеет аксиальный, а β -связь — экваториальный характер).

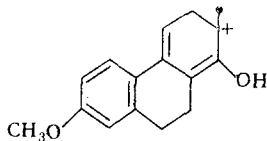
В ряду 19-нортестостерона (XXVIa, б и XXVIIa, б) величины отношений I_{M-H_2O}/I_{M^+} в спектрах эпимеров меньше отличаются друг от друга. Однако и в данном случае дегидратация 17α -ОН-эпимера под электронным ударом протекает легче. Более резко спектры эпимеров этой группы отличаются соотношением пиков ионов $(M-H_2O-17Alk)^+$ с m/e 255 и $(M-H_2O)^+$ (см. табл. 8). Значительное уменьшение отношения $I_{M-H_2O-17Alk}/I_{M-H_2O}$ в спектрах 17β -окси-эпимеров XXIVб и XXVIIб по сравнению с 17α -ОН-эпимерами XXVIa и XXVIIa связано, очевидно, с различием в механизме дегидратации их молекулярных ионов. По-видимому, аналогично описанному для *D*-гомо-спиртов, в процессе дегидратации молекулярных ионов XXVIa и XXVIIa с α -ОН-группой уходит атом водорода из кольца *D*, и образуется ион типа Γ_1 , тогда как в случае их β -ОН-эпимеров XXVIб и XXVIIб наряду с ионом типа Γ_1 образуется ион типа Γ_2 с экзоциклической двойной связью. В последнем случае выброс 17 -алкильной группы невозможен, поэтому уменьшается интенсивность пика с m/e 255.

12. 14-Оксистероиды

Масс-спектрометрический метод был применен также для определения конфигурации 14 и 8 центров в 14-оксипроизводных $\Delta^{9(11)}$ -дегидроэстрона (XXVIII) и $\Delta^{9(11)}$ -дегидро-*D*-гомоэстрона (XXIXa, б) ³¹.

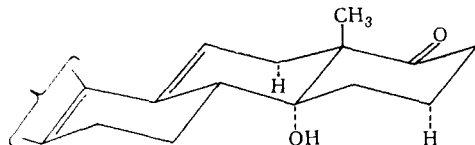


Масс-спектры кетолов (XXIXa) и (XXIXб) существенно отличаются друг от друга интенсивностью пика иона ж с m/e 241,

ж, m/e 241

образующегося при разрыве связей 13—17a и 14—15 в молекулярном ионе. Пятикратное увеличение этого иона при переходе от XXIXa к XXIXб позволяет отнести первый к *транс*-C/D-ряду (14 α -ОН), а второй к *цис*-C/D-ряду (14 β -ОН), по аналогии с *цис*- и *транс*- α -декалинами, 14 α - и 14 β -эквилинином, 8 α - и 8 β -эстроном и др.

Кроме того спектры XXIXa и XXIXб отличаются соотношением пиков ионов $(M-H_2O)^+$ и M^+ . Для XXIXa отношение I_{M-H_2O}/I_{M^+} равно 1,2, а для XXIXб — 0,3. С помощью 8-D₁-аналогов XXIXa и XXIXб было установлено, что в процессе дегидратации не участвует атом водорода при C₍₈₎. Очевидно, маловероятен и другой 1,2-процесс элиминирования с участием атома водорода при C₍₁₅₎. Не наблюдается выброса DON в случае 17-D₂-аналогов, что отвергает возможность 1,4-элиминирования. Поэтому, наиболее вероятен процесс 1,3-элиминирования воды с участием атома водорода от C₍₁₂₎ и C₍₁₆₎. Это подтверждает вывод о том, что легкость дегидратации кетолоа (XXIXa) связана с α -конфигурацией 14-ОН-группы (*транс*-C/D-сочленение), когда ОН-группа расположена аксиально к обоим кольцам C и D, и имеет место предпочтительное 1,3-*цис*-диаксиальное расположение элиминирующихся групп:



Незначительная степень дегидратации молекулярного иона кетолоа (XXIXб), по-видимому, связана с экваториальной ориентацией 14-ОН-группы по отношению к кольцу, являющемуся донором атома водорода в процессе элиминирования воды под электронным ударом. Это условие выполнимо лишь при *цис*-C/D-сочленении колец (14 β -ОН-конфигурация), так как в любой из теоретически возможных конформаций соединения (XXIXб) 14-ОН-группа расположена экваториально к одному из колец (C или D).

Масс-спектр кетолоа (XXVIII) очень сходен со спектром XXIXб, что позволило для первого приписать *цис*-C/D-сочленение колец и экваториальную ориентацию ОН-группы.

* * *

Несмотря на то, что экспериментальный материал еще недостаточно велик, все сказанное выше позволяет сделать вывод о том, что во всех случаях, когда молекула исследуемого стероидного спирта содержит достаточно жесткую циклическую систему, масс-спектрометрический метод можно с успехом применять для установления его конфигурации, так как в большинстве случаев аксиальная гидроксильная группа под электронным ударом элиминируется легче, нежели экваториальная.

ЛИТЕРАТУРА

1. K. Biemann, *Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications*, McGraw-Hill Book Co. N. Y., 1962, стр. 143.
2. R. Ryhage, E. Stenhagen, *Ark. Kem.*, **15**, 333 (1960).
3. C. Djerassi, Y. von Mutzenbecher, J. Fajkos, D. Williams, H. Budzikiewicz, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 817 (1965).
4. C. Beard, J. Wilson, H. Budzikiewicz, C. Djerassi, *Там же*, **86**, 269 (1964).
5. K. Biemann, J. Seibl, *Там же*, **81**, 3149 (1959).
6. J. Momigny, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liege*, **29**, 111 (1955).
7. W. McFadden, M. Lounsbury, A. Wahrhaftig, *Canad. J. Chem.*, **36**, 990 (1958).
8. W. McFadden, D. Black, *J. Phys. Chem.*, **67**, 1517 (1963).
9. S. Meyerson, L. Leitch, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 2555 (1964).
10. W. Benz, K. Biemann, *Там же*, **86**, 2375 (1964).
11. P. Natalis, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **69**, 224 (1960).
12. P. Natalis, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liege*, **31**, 790 (1962).
13. C. Macdonald, J. Shannon, Y. Sugowdz, *Tetrahedron Letters*, **1963**, 807.
14. H. Budzikiewicz, Z. Pelach, C. Djerassi, *Monatsh.*, **95**, 158 (1964).
15. H. Egger, G. Spiteller, *Там же*, **97**, 579 (1966).
16. В. И. Зарецкий, В. Г. Заикин, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1969**, 1722.
17. J. Karliner, H. Budzikiewicz, C. Djerassi, *J. Org. Chem.*, **31**, 710 (1966).
18. V. Zaretskii, N. Wulfson, V. Zaikin, L. Kogan, N. Voishvillo, I. Torgov, *Tetrahedron*, **22**, 1399 (1966).
19. Н. Вульфсон, В. Зарецкий, В. Заикин, *Химия природных соединений*, **1967**, 369.
20. M. Grostic, K. Rinehart, *J. Org. Chem.*, **33**, 1740 (1968).
21. H. Fitches, В кн. *Advances in Mass Spectrometry*, Pergamon Press, L., 1962, v. 2, p. 428.
22. В. Садовская, Н. Вульфсон, В. Зарецкий, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1967**, 1240.
23. N. Wulfson, V. Zaretskii, V. Zaikin, G. Segal, I. Torgov, T. Fradkina, *Tetrahedron Letters*, **1964**, 3015.
24. В. Зарецкий, Н. Вульфсон, В. Заикин, И. Паперная, *Химия природных соединений*, **1967**, 383.
25. M. Spiteller-Friedmann, G. Spiteller, *Organic Mass Spectrometry*, **1**, 231 (1968).
26. Н. Вульфсон, И. Торгов, В. Зарецкий, В. Леонов, С. Анащенко, В. Заикин, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1964**, 184.
27. S. Ananchenko, V. Leonov, V. Zaretskii, N. Wulfson, I. Torgov, *Tetrahedron*, **20**, 1279 (1964).
28. V. Zaretskii, N. Wulfson, V. Zaikin, S. Ananchenko, V. Leonov, I. Torgov, *Там же*, **21**, 2469 (1965).
29. V. Zaretskii, N. Wulfson, V. Zaikin, V. Leonov, I. Torgov, *Там же*, **24**, 2339 (1968).
30. V. Zaretskii, N. Wulfson, V. Zaikin, V. Leonov, S. Ananchenko, I. Torgov, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 347.
31. N. Wulfson, V. Zaretskii, V. Sadovskaya, A. Zakharichev, S. Ananchenko, I. Torgov, *Tetrahedron*, **23**, 3667 (1967).

Институт химии природных соединений
АН СССР, Москва