

УДК 543.510 : 541.63

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНФИГУРАЦИИ СТЕРОИДНЫХ СПИРТОВ

H. C. Вульфсон, B. I. Зарецкий и B. 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 окси-группа элиминируется под электронным ударом в виде воды легче, чем экваториальная, вследствие возможности протекания механизма 1,3- или 1,4-*cis*-диаксиального отщепления воды.

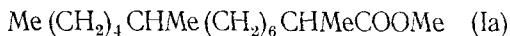
Библиография — 31 наименование.

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 С-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-диметиладипиновых кислот (I) и метиловых эфиров, 2L,9L- и 2L,9D-диметилтетракозиновых 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 ($\text{M}-\text{CH}_3$, $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$, $\text{M}-\text{H}_2\text{S}$, $\text{M}-\text{CH}_3\text{COOH}$ 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.

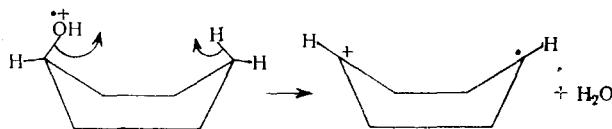
2. Механизм дегидратации спиртов под электронным ударом

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-D₄-цикlopентанола 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-*цикло*-диаксиального элиминирования воды. Более строго этот вопрос изучил Шенон с сотр.¹³ и Джерасси с сотр.¹⁴.

На примере 2,2,6,6-D₄- и 1,4,4-D₃-циклогексанолов Шенон¹³ показал, что дегидратация молекулярного иона циклогексанола (в условиях, исключающих 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):

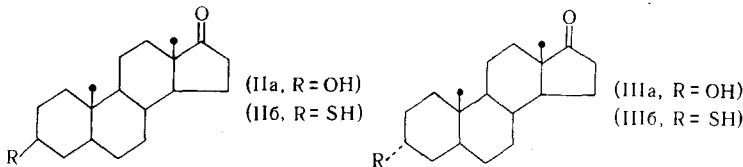


В этом случае *транс*-циклогександиол-1,4 должен легче дегидратироваться под электронным ударом, нежели его *цис*-изомер. Действительно, в спектре *транс*-1,4-D₂-циклогександиола-1,4 величина пика иона ($M-\text{DOH}$)⁺ в 8 раз больше аналогичного пика в спектре *цис*-диола.

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 3 β -ОН-группой отношение интенсивностей пиков $I_{M-\text{H}_2\text{O}}/I_{M^+}$ равно 0,11, а для андростерона (IIIa) 3 α -ОН-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.

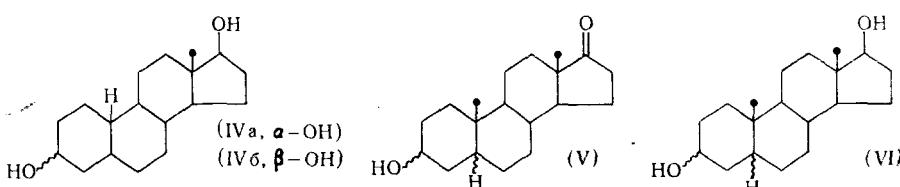
Однако достоверность полученных Биманном и Сейблом данных была поставлена под сомнение работой Эггера и Шпителлера¹⁵. Масс-спектры эпиандростерона (IIa) и андростерона (IIb), полученные этими авторами при использовании непосредственного ввода образца в ионный источник при 70°, оказались полностью идентичными и не различались соотношением пиков ионов M^+ и $(M-\text{H}_2\text{O})^+$. 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.

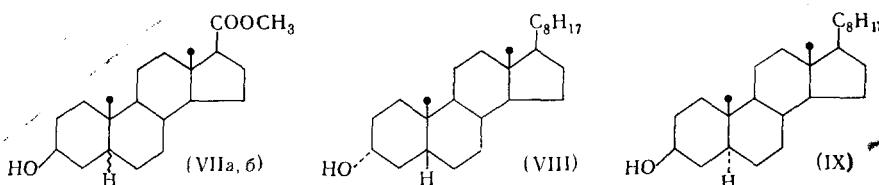
Приимая во внимание результаты, полученные Шенномом¹³ и Джерасси¹⁴, можно предположить, что дегидратация андростерона (IIIa)^{15, 16}, содержащего аксиальную OH-группу, протекает, главным образом, по типу 1,3-элиминирования. В то же время дегидратация эпиандростерона (IIa) может сопровождаться переходом кольца A в форму ванны. Это, по-видимому, увеличивает вероятность элиминирования 3β-OH-группы, 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 3α- и 3β-эпимеров практически одинакова. Некоторым подтверждением этой точки зрения могут служить спектры 19-норандростандиола-3α, 17β (IVa) и 3β, 17β (IVb).



Величина пика иона $(M - H_2O)^+$ в спектре 3 α -ОН-эпимера (IVa) значительно больше величины пика этого иона в случае его 3 β -ОН-эпимера (IVb)¹⁵. Если предположить, что кольцо A 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-CH₃-группой). Для стероидов с *цис*-сочленением колец A и B возможен уход атома водорода от C₍₉₎ (если кольцо A также находится в форме ванны). В случае спиртов с *транс*-сочленением колец A и B такой возможности нет, поэтому дегидратация спиртов 5 β -ряда по сравнению с их 5 α -эпимерами проходит легче.

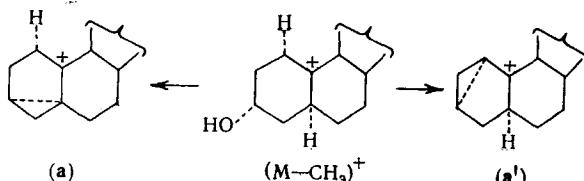
Не наблюдается также различий в спектрах эпимерных по $C_{(3)}$ андростанон-17-олов-3 (V) и андростандиолов-3,17 β (VI), как 5 α -, так и 5 β -ряда.

Однако спектры изомеров по сочленению колец *A* и *B* 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 (VIIa) и копростанола-3 α (VIII) по сравнению с их стереоизомерами — метилющим эфиrom 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 холестанолов-3 посвящена работа Джейкобса и др.

расси с сотр.¹⁷. Для того, чтобы исключить влияние процесса термической дегидратации, предшествующего электронному удару, авторы рассматривают дегидратацию иона $(M-\text{CH}_3)^+$, а не молекулярного иона, как это обычно делается. Как показали масс-спектры дейтеропроизводных холестанола-3 α (см. табл. 1), в образовании иона $(M-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O})^+$ на 73% участвует H-атом из 5 α -положения (ион a) и на 7% от C₍₁₎ (ион a'). В случае холестанола-3 β при образовании иона $(M-\text{CH}_3-$



$\text{H}_2\text{O})^+$ на 28% уходит H-атом из положения 1 и на 11% — 5 α -H-атом (см. табл. 2). Остальная часть атомов водорода, участвующих в процессе дегидратации иона $(M-\text{CH}_3)^+$ элиминируется из других колец. Если учесть, что кольцо A находится в форме кресла, то для холестанола-3 α осуществляется возможность 1,3-диаксиального отщепления водорода с

ТАБЛИЦА 1

Интенсивность пика иона $(M-\text{CH}_3-\text{HDO})^+$
в % от $(M-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O})^+$ в спектрах
меченых холестанолов-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 |

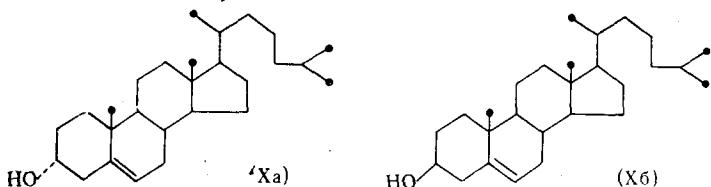
Интенсивность пика иона $(M-\text{CH}_3-\text{HDO})^+$
в % от $(M-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O})^+$ в спектрах
меченых холестанолов-3 β

| | |
|--|----|
| 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 -H-атома. Понятно, что такая возможность отсутствует в молекуле холестанола-3 β , более вероятным в этом случае является раскрытие кольца A и хаотический выброс H-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 A, что существенно меняет картину. Действительно, масс-спектры эпихолестерина (Xa) и холестерина (Xb)¹⁶ различаются соотношением интенсивностей пиков ионов $(M-\text{H}_2\text{O})^+$ и M^+ .

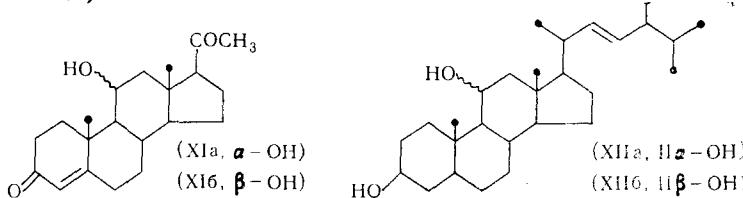


В случае Xa (аксиальная OH-группа) величина пика иона $(M-\text{H}_2\text{O})^+$ составляет 90% от интенсивности пика M^+ , тогда как в спектре Xb (экваториальная OH-группа) соответствующая величина равна 50%. Таким образом, если предположить, что элиминирование воды в данном случае

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

4. 11-Оксистероиды

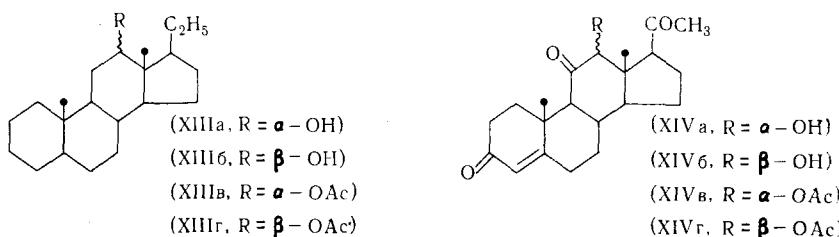
В отличие от 3-оксистероидов, масс-спектры стероидных спиртов, содержащих OH-группу в конформационно закрепленных кольцах, резко отличаются друг от друга, в первую очередь, величиной отношения интенсивностей пиков I_{M-H_2O}/I_{M^+} . Сравнение масс-спектров прогестеронола-11 α (XIa) и -11 β (XIb)¹⁸⁻²⁰,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



Масс-спектры Δ^{22} -эргостендиола-3 $\beta,11\alpha$ (XIIa) и -3 $\beta,11\beta$ (XIIb), изученные Фитчесом²¹, также отличаются соотношением величины пиков $M-H_2O$ и M^+ . В спектре 11 α -эпимера XIIa (экваториальная OH-группа) отношение I_{M-H_2O}/I_{M^+} значительно меньше, чем в случае 11 β -эпимера XIIb (аксиальная OH-группа).

5. 12-Оксистероиды

Были изучены масс-спектры прегнанола-12 α (XIIIa) и -12 β (XIIIb), их ацетатов (XIIIc и XIIIg), Δ^4 -прегнентрион-3,11,20-ола-12 α (XIVa) и -12 β (XIVb), а также ацетатов последних (XIVc и XIVg)¹⁶. Прегнанолы-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 эпимеров сильно отличаются. Как было отмечено и для прогестеронолов-11, аксиальная OH-группа в ряду прегнанолов-12 также элиминируется легче.



Любопытным в масс-спектрах XIIIa и XIIIb является различие в интенсивности пика с m/e 257, отвечающего выбросу C₂H₅-радикала из иона ($M-H_2O$)⁺. Интенсивность этого пика значительно выше в спектре XIIIa. Можно ожидать, что вследствие *cis*-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 (XIII_в и XIII_г) мало отличаются друг от друга. Оба эпимера настолько легко отщепляют молекулу AcOH под электронным ударом, что зарегистрировать пик молекулярного иона не

ТАБЛИЦА 3

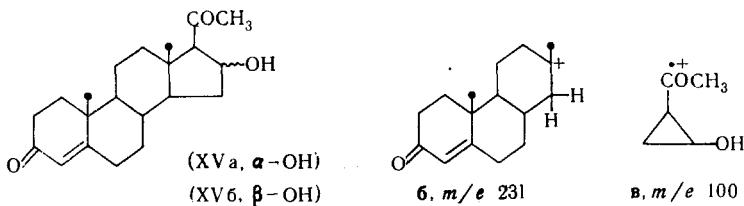
Величина отношения $I_{M-\text{H}_2\text{O}(\text{AcOH})}/I_M$ в масс-спектрах XIII a, b и XIV a —

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

от конфигурации, не сохраняется в случае Δ^4 -прегнентрион-3,11,20-олов-12 (XIVа и XIVб)¹⁶. В данном случае вдвое большая величина отношения $I_{\text{M}-\text{H}_2\text{O}}/I_{\text{M}^+}$ 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 большая величина пика иона ($\text{M}-\text{AcOH}$)⁺ характерна для 12 α -ацетокси-эпимера **XIVв** (аксиальная OAc-группа) (см. табл. 3).

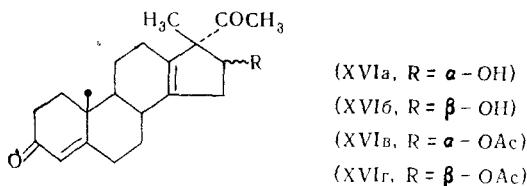
6. 16-Оксистероиды

Изучение масс-спектров прогестеронола- 16α (XVa) и - 16β (XVb)^{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 XVa (16α -ОН-группа) в 3 раза больше, чем его β -эпимера XVb (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 *A*, *B* и *C* 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-16 α (XVa) и практически отсутствует в спектре его 16 β -эпимера (XVб).

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



Дальнейшее подтверждение конфигурации 16-го центра было получено при сравнении масс-спектров соответствующих ацетатов (XVI b 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 |
| XVb | 4,3 | 0,65 | 0,6 |

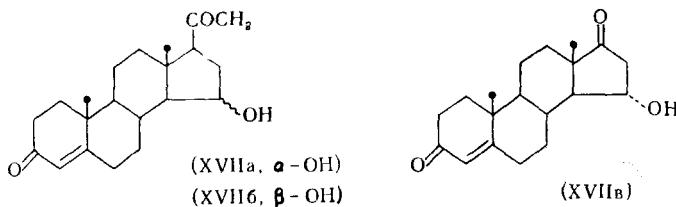
Величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M+} и интенсивность пиков характеристических ионов (% от Σ) в масс-спектрах XVIIa—в

| Соединение | I_{M-H_2O}/I_{M+} | Ион б (m/e 231) | Ион в (m/e 100) |
|------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| XVIIa | 0,24 | 0,7 | 0,3 |
| XVIIb | 4,9 | 3,0 | 1,3 |
| XVIIc | 0,07 | 0,2 | — |

XVID). Прежде всего, в спектрах эпимеров различна величина отношения пиков ионов ($M-AcOH$)⁺ и M^+ (для XVI b $I_{M-AcOH}/m+ = 120$, а для XVI d — 36). Поэтому ацетат XVI b следует отнести к 16 α -, а его эпимер — XVI d — к 16 β -ряду. В спектре XVI a , б и XVI b , 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 (XVI a и XVI b) связана, по-видимому, с *цикло*-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 (XVIIb), а также Δ^4 -андростендион-3,17-ола-15 α (XVIIc)^{18, 19}. Как оказалось, большая величина отношения I_{M-H_2O}/I_{M+} характерна для 15 β -ОН-эпимера XVIIb (см. табл. 5). Это объясняется тем фактом, что



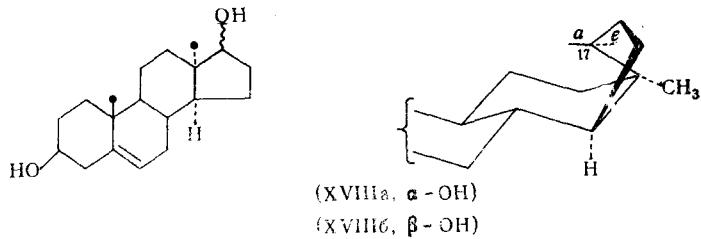
в молекуле XVIIa гидроксильная группа имеет экваториальный, а в молекуле XVIIb — аксиальный характер. Аналогичная картина наблюдает-

ся и в масс-спектре **XVIIв**, в котором интенсивность пика иона $(M - H_2O)^+$ составляет всего 7% от величины пика M^+ , доминирующего в спектре. Характерным отличием масс-спектра **XVIIб**, 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).

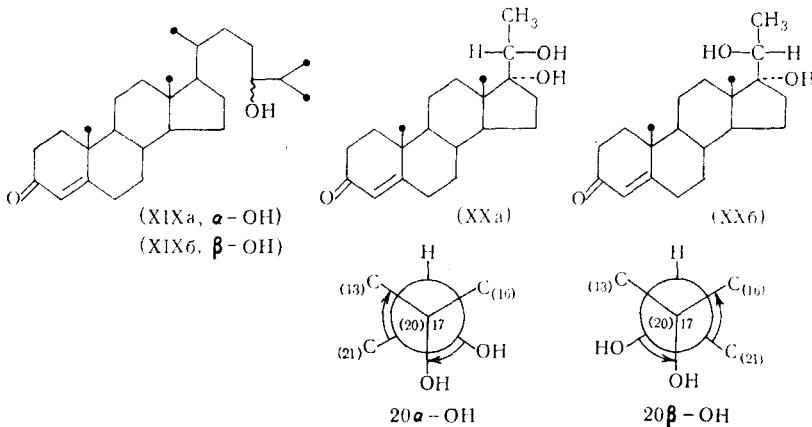
8. 17-Оксистероиды

Поведение эпимерных 17-оксистероидов нормального ряда под электронным ударом не было изучено. Однако следует отметить, что стероиды 17β -окси-ряда (эстрadiол, 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- 3β , 17α (**XVIIIа**) и - 3β , 17β (**XVIIIб**)¹⁶.



видно, что дегидратация под электронным ударом протекает по-разному: в масс-спектре **XVIIIа** интенсивность пика M^+ больше пика иона $(M - H_2O)^+$, а в спектре **XVIIIб** 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 элиминируется в виде воды легче, чем экваториальная. Подобная закономерность прослеживается и на ряде других фрагментов, образующихся при распаде молекулярных ионов соединений (**XVIIIа**) и (**XVIIIб**). Так, аналогично изменению величины отношения $I_{M - H_2O}/I_{M^+}$, при переходе от **XVIIIа** к

XVIIIб меняются величины отношений

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

$$I_{m/e 139}/I_{m/e 205} \text{ и } I_{m/e 161}/I_{m/e 179}.$$

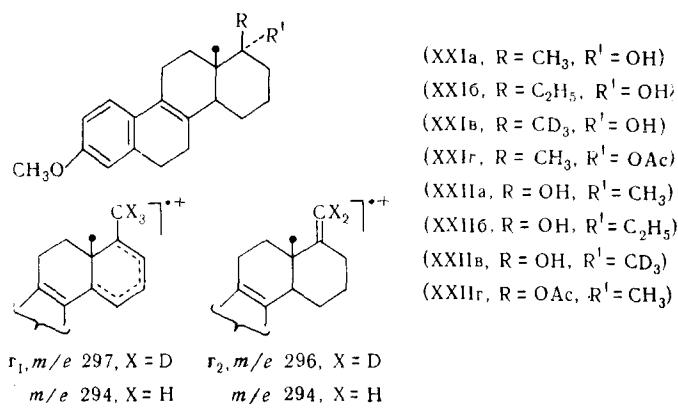
В двух последних случаях ионы с m/e 205 и 179 характерны для стероидов с Δ^5 двойной связью и содержат кольцо C и часть кольца A и B ²³⁻²⁵.

9. 20- и 24-Оксистероиды

Как уже отмечалось, масс-спектры эпимерных алифатических спиртов с одним асимметрическим центром полностью идентичны друг другу. Сравнение масс-спектров Δ^4 -холестенон-3-ола-24 α (XIXa) и -24 β (XIXb), содержащих гидроксильную группу в алифатической боковой цепи, показало, что и в данном случае спектры эпимеров не различаются. В то же время масс-спектры Δ^4 -прегненон-3-диола-17 α , 20 α (XXa) и его 20 β -ОН-эпимера (XXb) существенно отличаются величинами отношений I_{M-H_2O}/I_{M^+} , I_{M-2H_2O}/I_{M-H_2O} , а также I_{M-CH_3COONa}/I_{M^+} . Эти отношения существенно больше для XXa. Как видно из рассмотрения молекулярных моделей Дрейдинга, в молекуле 20 β -ОН-эпимера XXb возможно возникновение водородной связи между 20 β -ОН- и 17 α -ОН-группами, тогда как в случае 20 α -эпимера XXa этой возможности реализоваться трудно из-за пространственных препятствий, вызванных сближением 21-CH₃- и ангидруларной CH₃-группы при C₍₁₃₎ (см. схему на стр. 280). Образование водородной связи, по-видимому, и является причиной, препятствующей выбросу молекулы воды и CH₃CH₂OH-радикала из молекулярного иона 20 β -ОН-эпимера XXb.

10. Третичные спирты D-гомо-ряда

Изучение масс-спектров эпимерных третичных спиртов, производных *dl*-3-метокси-17 α -алкил- $\Delta^1, 3, 5(10), 8$ -D-гомоэстратетраенола-17 α (XXIa, б) и (XXIIa, б)²⁶⁻²⁸ показало, что различия в спектрах эпимеров исключительно велики. Прежде всего в спектрах спиртов с аксиальной гидроксильной группой (XXIa, б) интенсивность пика иона ($M-H_2O$)⁺ во много раз больше интенсивности пика M^+ , тогда как в случае их эпимеров с экваториальной OH-группой (XXIIa, б) наблюдается обратная картина (см. табл. 6).



Для выяснения механизма дегидратации под электронным ударом были изучены масс-спектры 17 α -тридейтерометильных аналогов XXIa и

XXIa (XXIb и XXIIb). Сравнение масс-спектров **XXIb** и **XXIIb** (см. рис. 1 и 2) показывает, что легко дегидратирующийся эпимер **XXIIb** (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 **XXIa, 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 17a-OH-группы (так как только в этом случае возможен уход с OH-группой одного из аксиальных атомов водорода кольца D) и таким образом является новым доказательством конфигурации 17a-центра в молекуле этого соединения. Появление же дуплета пиков $M - H_2O$ и $M - DOH$ в спектре **XXIIb** свидетельствует об *a*-алкил-*e*-OH-конфигурации 17a-центра этого соединения.

ТАБЛИЦА 6

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**

| Соединение | 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 |

кулярного иона **XXIb** фрагмента γ_1 (а не γ_2) говорит об аксиальном расположении 17a-OH-группы (так как только в этом случае возможен уход с OH-группой одного из аксиальных атомов водорода кольца D) и таким образом является новым доказательством конфигурации 17a-центра в молекуле этого соединения. Появление же дуплета пиков $M - H_2O$ и $M - DOH$ в спектре **XXIIb** свидетельствует об *a*-алкил-*e*-OH-конфигурации 17a-центра этого соединения.

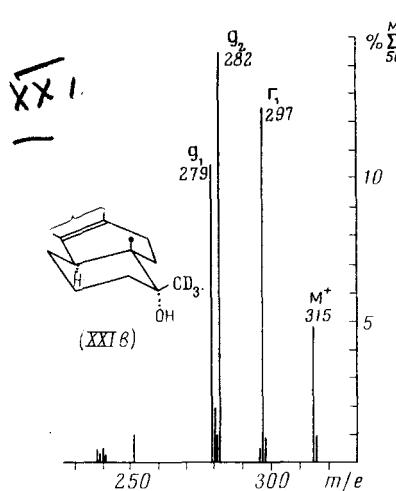


Рис. 1

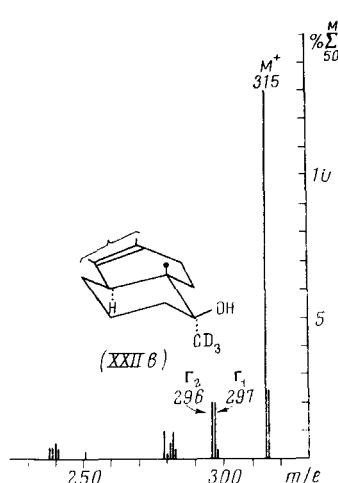
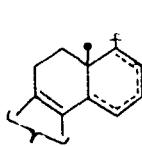
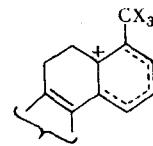
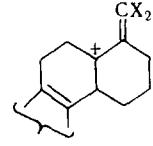


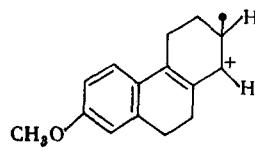
Рис. 2

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 OH-группой (**XXIa, б**) интенсивность первого во много раз превышает интенсивность второго, а в случае эпимеров с экваториальной OH-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 OH-группой отвечает иону d_1 и d_2 ; в случае же спиртов с экваториаль-

ной OH-группой после отщепления воды возможен уход только ангулярной CH₃-группы (ион d₃), так как присутствие экзоциклической двойной связи в ионе r₂ делает невозможным уход 17a-алкильной группы.

d₁, *m/e* 279d₂, X = D, *m/e* 282
X = H, *m/e* 279d₃, *m/e* 281
m/e 279

Еще одним из характеристических пиков в масс-спектрах XXIa, б и XXIIa, б, интенсивность которых зависит от конфигурации эпимера, является пик с *m/e* 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 17a-OH-группы.

e, *m/e* 227

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-H_2O}/I_{M+}
в масс-спектрах XXIIIa, б—XXVa, б

| Соединение | I_{M-H_2O}/I_{M+} | Соединение | I_{M-H_2O}/I_{M+} |
|------------|---------------------|------------|---------------------|
| XXIIIa | 45 | XXIVб | 21 |
| XXIIIб | 14 | XXVa | 62 |
| XXIVa | 41 | XXVб | 21 |

ТАБЛИЦА 8

Величины отношений
 I_{M-H_2O}/I_{M+} и $I_{M-H_2O-17Alk}/I_{M-H_2O}$
в масс-спектрах XXVIa, б и XXVIIa, б

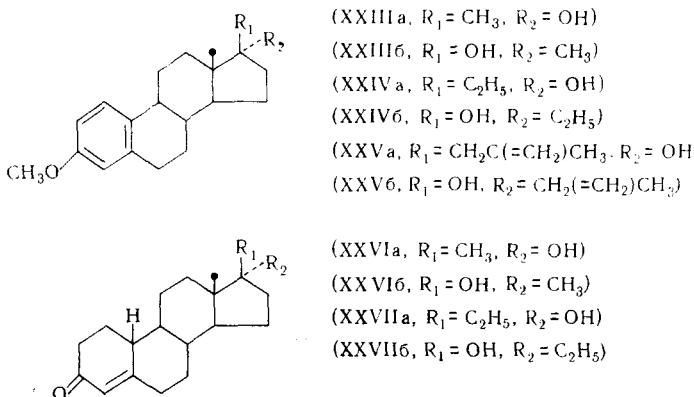
| Соединение | I_{M-H_2O}/I_{M+} | $I_{M-H_2O-17Alk}/I_{M-H_2O}$ |
|------------|---------------------|-------------------------------|
| XXVIa | 36 | 1,8 |
| XXVIб | 17,4 | 0,3 |
| XXVIIa | 21 | 1,8 |
| XXVIIб | 15 | 0,9 |

ностью пиков ионов типа d, обусловленных выбросом CH₃-группы из ионов типа b ($M-AcOH$)⁺. 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- $\Delta^{1,3,5(10)}$ -эстрагренола-17 (XXIIIa, б—XXVa, б) и *dl*-17-алкил-19-нор-тестостерона

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

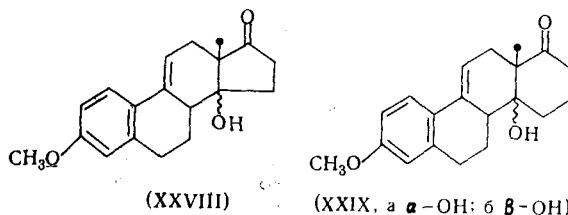


ставлениями о характере связей при атоме C₍₁₇₎ (α -связь имеет аксиальный, а β -связь — экваториальный характер).

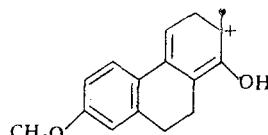
В ряду 19-нортестостерона (XXVI_a, б и XXVII_a, б) величины отношения I_{M-H_2O}/I_{M^+} в спектрах эпимеров меньше отличаются друг от друга. Однако и в данном случае дегидратация 17 α -ОН-эпимера под электронным ударом протекает легче. Более резко спектры эпимеров этой группы отличаются соотношением 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 17 β -окси-эпимеров XXIV_b и XXVII_b по сравнению с 17 α -ОН-эпимерами XXVI_a и XXVII_a связано, очевидно, с различием в механизме дегидратации их молекулярных ионов. По-видимому, аналогично описанному для D-гомо-спиртов, в процессе дегидратации молекулярных ионов XXVI_a и XXVII_a с α -ОН-группой уходит атом водорода из кольца D, и образуется ион типа Γ_1 , тогда как в случае их β -ОН-эпимеров XXVI_b и XXVII_b 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 (XXIX_a, б)³¹.



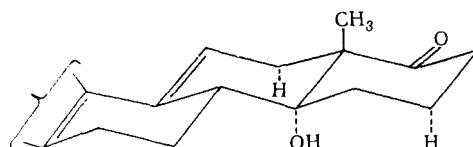
Масс-спектры кетолов (XXIX a) и (XXIX b) существенно отличаются друг от друга интенсивностью пика иона \dot{M} с m/e 241,



*. m/e 241

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

Кроме того спектры XXIX a и XXIX b отличаются соотношением пиков ионов ($M - H_2O$) $^+$ и M^+ . Для XXIX a отношение $I_{M - H_2O}/I_{M^+}$ равно 1,2, а для XXIX b — 0,3. С помощью 8-D₁-аналогов XXIX a и XXIX b 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 DOH 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 кетола (XXIX a) связана с *a*-конфигурацией 14-ОН-группы (*транс-C/D*-сочленение), когда OH-группа расположена аксиально к обоим кольцам C и D, и имеет место предпочтительное 1,3-*цик*-диаксиальное расположение элиминирующихся групп:



Незначительная степень дегидратации молекулярного иона кетола (XXIX b), 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 *цик-C/D*-сочленении колец (14 β -ОН-конфигурация), так как в любой из теоретически возможных конформаций соединения (XXIX b) 14-ОН-группа расположена экваториально к одному из колец (C или D).

Масс-спектр кетола (XXVIII) очень сходен со спектром XXIX b , что позволило для первого приписать *цик-C/D*-сочленение колец и экваториальную ориентацию OH-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. Stenhammar, 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. Б. Садовская, Н. Вульфсон, В. Зарецкий, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 1240.
23. N. Wulfson, V. Zaretskii, V. Zaikin, G. Segal, I. Torgov, T. Fradkin, 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. Ананченко, 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