

Gerhard Schulz und Rudolf Wiechert

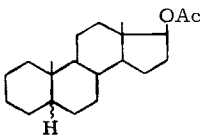
## NMR- und Massenspektren von 1.2-Methylen-steroiden

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin

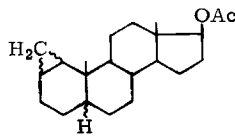
(Eingegangen am 21. September 1965)

Die in den NMR-Spektren von 17 $\beta$ -Acetoxy-1.2 $\alpha$ -methylen- und 17 $\beta$ -Acetoxy-1.2 $\beta$ -methylen-5 $\alpha$ - bzw. -5 $\beta$ -androstan, -androstanon-(3) und - $\Delta^4$ -androstanon-(3) gefundenen Verschiebungen des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe werden mit berechneten Werten verglichen. Die Ergebnisse werden diskutiert und Schlüsse über die Konformation des A-Ringes gezogen. Ferner wird die massenspektroskopische Fragmentierung der oben genannten Verbindungen untersucht.

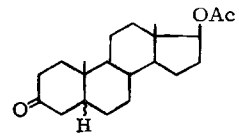
Die Signale der 18- und 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe in den NMR-Spektren von Steroiden erfahren durch die Einführung von Substituenten am Steroidgerüst eine Verschiebung. Wie Zürcher<sup>1)</sup> zeigen konnte, sind diese Verschiebungen für die einzelnen Substituenten und ihre Stellung am Steroidgerüst typisch. Die Gesamtverschiebung der Signale der 18- und 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe ergibt sich aus additiven Beiträgen der einzelnen Substituenten. Abweichungen von der Additivität der Beiträge treten dann auf, wenn durch einen der Substituenten eine Verzerrung des Steroidgerüsts bedingt wird, zwei benachbarte Substituenten in Wechselwirkung miteinander treten oder sich in ihrer geometrischen Anordnung stark beeinflussen.



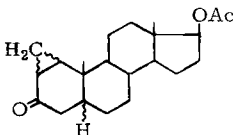
1a: 5 $\alpha$   
b: 5 $\beta$



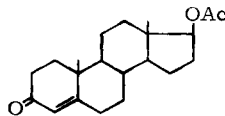
2a: 1.2 $\alpha$ , 5 $\alpha$     c: 1.2 $\alpha$ , 5 $\beta$   
b: 1.2 $\beta$ , 5 $\alpha$     d: 1.2 $\beta$ , 5 $\beta$



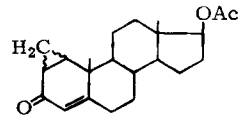
3a: 5 $\alpha$   
b: 5 $\beta$



4a: 1.2 $\alpha$ , 5 $\alpha$     c: 1.2 $\alpha$ , 5 $\beta$   
b: 1.2 $\beta$ , 5 $\alpha$     d: 1.2 $\beta$ , 5 $\beta$



5



6a: 1.2 $\alpha$   
b: 1.2 $\beta$

<sup>1)</sup> R. F. Zürcher, *Helv. chim. Acta* **44**, 1380 (1961) und **46**, 2054 (1963).

Durch Vergleich der NMR-Spektren von **2a** und **2b** mit dem Spektrum von **1a** und der Spektren von **2c** und **2d** mit dem Spektrum von **1b** haben wir die in Tab. 1 angegebenen Verschiebungen des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe durch eine 1.2 $\alpha$ - und 1.2 $\beta$ -Methylengruppe in der Reihe der 5 $\alpha$ - bzw. 5 $\beta$ -Androstane ermittelt.

Tab. 1. Lagen der NMR-Signale der 18- und 19-CH<sub>3</sub>-Gruppen in Steroiden

Verbindung	18-CH <sub>3</sub> ( $\tau$ )	19-CH <sub>3</sub> ( $\tau$ )	$\Delta\tau$ 19-CH <sub>3</sub> , bedingt durch beobachtet	1.2-Methylen berechnet
<b>1a</b>	9.21	9.21		
<b>2a</b>	9.20	9.00	<b>2a-1a</b> -0.21	-0.28
<b>2b</b>	9.18	9.27	<b>2b-1a</b> +0.06	+0.21
<b>1b</b>	9.22	9.07		
<b>2c</b>	9.19	8.84	<b>2c-1b</b> -0.23	-0.24
<b>2d</b>	9.18	8.97	<b>2d-1b</b> -0.10	-0.05
			$\Delta\tau$ 19-CH <sub>3</sub> , bedingt durch 3-Oxo	Konformation des A-Ringes
<b>3a</b>	9.21	9.00	<b>3a-1a</b> -0.21	Sessel
<b>4a</b>	9.17	9.02	<b>4a-2a</b> +0.02	Halbwanne o. Twist
<b>4b</b>	9.15	9.09	<b>4b-2b</b> -0.18	Halbsessel
<b>3b</b>	9.18	8.95	<b>3b-1b</b> -0.12	Sessel
<b>4c</b>	9.17	8.74	<b>4c-2c</b> -0.10	Halbsessel
<b>4d</b>	9.20	8.84	<b>4d-2d</b> -0.13	Halbsessel
			$\Delta\tau$ 19-CH <sub>3</sub> bedingt durch 3-Oxo- $\Delta^4$	
<b>5</b>	9.19	8.81	<b>5-1b</b> -0.26	
<b>6a</b>	9.14	8.71	<b>6a-2c</b> -0.13	
<b>6b</b>	9.12	8.72	<b>6b-2d</b> -0.25	

Unter der Annahme, daß die Verschiebung des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe hauptsächlich durch die Anisotropie der C—C-Bindung des ankondensierten Cyclopropanringes bedingt sei, kann man diese Verschiebung nach der von *McConnell*<sup>2)</sup> angegebenen Formel

$$\Delta\tau = \frac{\Delta\chi (3 \cos^2 \Theta - 1)}{3 R^3}$$

berechnen.

Die ebenfalls in Tab. 1 angegebenen errechneten Verschiebungen haben wir ermittelt, indem wir die durch die drei Bindungen des Cyclopropanringes verursachten Verschiebungen summiert und davon die durch die Bindung zwischen C-1 und C-2 in den Stammverbindungen verursachte Verschiebung subtrahiert haben. Die gleichzeitig eintretenden Verformungen des A-Ringes (z. B. Übergang von der Sessel- in die

<sup>2)</sup> H. M. *McConnell*, J. chem. Physics **27**, 226 (1957).

Halbsesselform) haben wir in erster Näherung vernachlässigt. Die zur Berechnung nötigen Abstände  $R$  und Winkel  $\Theta$  haben wir an Dreiringmodellen gemessen. Für die C—C-Bindung im Cyclohexanring haben wir den von *Bothner-By* und *Naar-Colin*<sup>3)</sup> errechneten  $\Delta\chi$ -Wert von  $-5.5 \cdot 10^{-30}$  cm<sup>3</sup>/Molekül und für die C—C-Bindung im Cyclopropanring den von *Tori* und *Kitahonoki*<sup>4)</sup> ermittelten Wert  $\Delta\chi = -20 \cdot 10^{-30}$  cm<sup>3</sup>/Molekül benutzt.

Ein Vergleich der gemessenen und berechneten Verschiebungen des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe zeigt eine relativ gute Übereinstimmung, mit Ausnahme der beim Übergang von **1a** nach **2b** beobachteten Verschiebung. Im Falle der Verbindung **2b** dürfte es zu einer erheblichen sterischen Wechselwirkung zwischen der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe und dem Cyclopropanring kommen. Nimmt man an, daß der auf Grund der Anisotropie berechneten Abschirmung eine zusätzliche durch räumliche Wechselwirkung bedingte Entschirmung überlagert ist, so würde es verständlich, warum die gemessene Abschirmung gegenüber der berechneten zu niedrig ausfällt.

Wie weit durch den in 1.2-Stellung ankondensierten Dreiring die Konformation des A-Ringes geändert wird, läßt sich aus einem Vergleich der gemessenen und berechneten Verschiebungen der 1.2-Methylen-androstane nur sehr schwer abschätzen. Günstiger für die Beurteilung dieser Frage ist es, einen zusätzlichen Substituenten in den A-Ring einzuführen, dessen geometrische Anordnung zur 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe einen starken Einfluß auf die Verschiebung des Signals dieser Gruppe hat. Geeignet dafür ist z. B. die 3-Keto-Gruppe. Ein Vergleich der Spektren der Androstanone **3a**, **3b** und **4a** bis **4d** mit den Spektren der entsprechenden Androstane **1a**, **1b** und **2a** bis **2d** sollte Hinweise auf die Konformation des A-Ringes liefern.

In **3a** liegt der A-Ring in der Sesselform vor. In dieser Form bildet der Vektor vom Mittelpunkt der C=O-Bindung zum Schwerpunkt der H-Atome der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe mit der Ebene der Carbonylgruppe einen Winkel von etwa 15 Grad. Daher sollte in **3a** die 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe durch die magnetische Anisotropie der Carbonylgruppe entschirmt werden. Dementsprechend beobachtet man beim Übergang von **1a** nach **3a** eine Verschiebung des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe um 0.21 ppm zu niederen Feldstärken. Etwa die gleiche Verschiebung beobachtet man beim Übergang von **2b** nach **4b**, dagegen beobachtet man beim Übergang von **2a** nach **4a** keine Entschirmung, sondern sogar eine schwache Abschirmung. Daraus kann man den Schluß ziehen, daß in **2b** der A-Ring in einer Halbsesselform vorliegt, dagegen muß in **2a** die Konformation des A-Ringes so geändert sein, daß der Vektor zwischen dem Mittelpunkt der C=O-Bindung und dem Schwerpunkt der H-Atome der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe mit der Ebene der Carbonylgruppe etwa einen Winkel von 55 Grad einschließt<sup>5)</sup>. Dies sollte geschehen, wenn das C-Atom 3 nach oben klappt und der A-Ring sich damit der Wannens- oder Twistform annähert.

3) *A. A. Bothner-By* und *C. Naar-Colin*, Ann. New York Acad. Sci. **70**, 833 (1958).

4) *K. Tori* und *K. Kitahonoki*, J. Amer. chem. Soc. **87**, 386 (1965).

5) Bei 55° geht der in der Formel von *McConnell* auftretende Ausdruck  $(3 \cos^2 \Theta - 1)$  durch Null und ändert dann sein Vorzeichen. Damit verbunden nimmt der entschirmende Einfluß der Carbonylgruppe bis zu diesem Winkel hin ab, um dann in einen abschirmenden Einfluß überzugehen.

Auch beim Übergang von **1b** nach **3b** beobachtet man eine Entschirmung des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe, allerdings nur um 0.12 ppm. Die Verschiebungen, die man beim Übergang von **2c** nach **4c** und von **2d** nach **4d** beobachtet, sind etwa gleich groß, so daß sich in der 5 $\beta$ -Reihe kein Hinweis auf eine durch Anknüpfung des Dreiringes geänderte Konformation des A-Ringes ergibt.

Beim Übergang von **1b** nach **5** beobachtet man eine Entschirmung des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe um 0.26 ppm, beim Übergang von **2d** nach **6b** eine etwa gleich große, beim Übergang von **2c** nach **6a** eine nur etwa halb so große Entschirmung. Dies kann ebenfalls als Hinweis darauf gedeutet werden, daß auch bei  $\Delta^4$ -Androstenon-(3) durch die 1.2 $\alpha$ -Methylengruppe die Konformation des A-Ringes so geändert wird, daß der Winkel zwischen dem Vektor vom Mittelpunkt der C=O-Bindung zum Schwerpunkt der H-Atome der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe und der Ebene der Carbonylgruppe vergrößert wird.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß mit Hilfe der NMR-Spektren auf Grund der unterschiedlichen Verschiebungen des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe zwischen 1.2 $\alpha$ - und 1.2 $\beta$ -Methylen-steroiden unterschieden werden kann. Bei der Berechnung der Lage des Signals der 19-CH<sub>3</sub>-Gruppe durch Addition der Beiträge einzelner Substituenten muß man berücksichtigen, daß bei den 1.2 $\alpha$ -Methylen-5 $\alpha$ -androstanen der A-Ring in einer Halbwanne- oder Twistform vorliegt, und daß man daher andere als die bei einer Sesselform üblichen Beiträge für Substituenten am A-Ring verwenden muß, für die 3-Keto-Gruppe z. B.  $\Delta\tau = +0.02$  ppm an Stelle von  $-0.21$  ppm. Zwischen 1.2 $\alpha$ -Methylen- $\Delta^4$ -androstenon-(3) und 1.2 $\beta$ -Methylen- $\Delta^4$ -androstenon-(3) kann nicht unterschieden werden, da die Summe der durch 1.2 $\alpha$ -Methylen und 3-Oxo- $\Delta^4$  in der Konformation von **6a** bedingten Verschiebungen etwa gleich der Summe der durch 1.2 $\beta$ -Methylen und 3-Oxo- $\Delta^4$  in der Konformation von **6b** bedingten Verschiebungen ist.

Parallel zu den NMR-Spektren haben wir die Massenspektren der 1.2-Methylensterioide untersucht. Es sollte festgestellt werden, ob die Einführung einer 1.2-Methylen-Gruppe in das Steroidgerüst die Bildung charakteristischer Bruchstücke veranlaßt, und ob aus dem Verlauf der Fragmentierung Rückschlüsse auf die sterische Anordnung gezogen werden könnten. Die hauptsächlichsten Bruchstücke, die bei der Aufnahme der Massenspektren entstehen, sind zusammen mit ihren relativen Intensitäten in Tab. 2 zusammengefaßt.

Bei den Massenspektren der Verbindungen **2a** bis **2d** fällt besonders das Fragment mit der Masse 288 auf, das aus den entsprechenden Molekül-Ionen durch Abspaltung von 42 Masseneinheiten (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>) entstanden ist. Ein entsprechendes Bruchstück findet sich in den Spektren von **1a** und **1b** nicht. Obwohl keine Untersuchungen an isotopenmarkierten Verbindungen vorliegen, nehmen wir an, daß dieses Fragment aus dem Molekül-Ion unter Abspaltung der C-Atome des Cyclopropanrings entsteht. Die Verbindung **2d** scheint weniger stabil als die anderen drei Isomeren zu sein, denn während bei **2a**, **2b** und **2c** das Molekül-Ion zugleich den intensivsten Peak des Massenspektrums liefert, besitzt das Molekül-Ion in **2d** nur 77% der Intensität des Ions der Masse 288. Das Fragment der Masse 228, das aus 288 durch Abspaltung von einem Molekül Essigsäure entsteht, ist ebenfalls im Spektrum von **2d** besonders intensiv. Die Bildung

von Bruchstücken der Masse 276 (M-54) und 216 (M-(54+60)) ist bei den 5 $\beta$ -Verbindungen **2c** und **2d** gegenüber den 5 $\alpha$ -Verbindungen begünstigt; im Spektrum von **2a** treten relativ intensive Bruchstücke bei den Massen 262, 260 und 202 auf.

Tab. 2. Charakteristische Ionen der Massenspektren der 1.2-Methylen-steroido

Ion	<i>m/e</i>	relative Intensität <sup>a)</sup>				<i>m/e</i>	relative Intensität <sup>a)</sup>				relat. Intensität <sup>a)</sup>		
		<b>2a</b>	<b>2b</b>	<b>2c</b>	<b>2d</b>		<b>4a</b>	<b>4b</b>	<b>4c</b>	<b>4d</b>	<b>6a</b>	<b>6b</b>	
M	330	100	100	100	77	344	85	60	53	83	342	100	39
M-15	315	5	3	4	5						327	4	<1
M-28											314	63	100
M-42	288	22	32	13	100	302	15	35	8	74	300	9	<1
M-54	276	2	2	9	18								
M-60	270	74	33	36	56	284	37	100	31	51	282	11	<1
M-68	262	13	6	3	—								
M-(42 + 28)	260	23	2	3	5	274	17	24	100	100	272	<1	<1
M-(60 + 15)	255	37	16	16	38	269	17	16	9	13	267	5	
M-84						260	100	—	—	17			
M-(60 + 28)											254	5	5
M-(60 + 42)	228	7	9	6	40	242	—	—	—	28			
M-(60 + 54)	216	5	5	12	29								
M-(60 + 68)	202	14	7	3	6								
M-(60 + 42 + 28)						214	8	13	20	41			
M-(60 + 84)						200	17	—	5	10			

a) Die Intensitäten sind in Prozent des jeweils intensivsten Peaks des Spektrums angegeben.

Auch aus den Verbindungen **4a** bis **4d** erfolgt leicht eine Abspaltung von 42 Masseneinheiten unter Bildung eines Fragments der Masse 302. Ein weiteres Fragment tritt bei der Massenzahl 274 auf. Es entsteht zumindest teilweise, wie ein metastabiler Peak bei der Massenzahl 248.5 zeigt, aus dem Bruchstück bei 302 durch Abspaltung von 28 Masseneinheiten (sehr wahrscheinlich handelt es sich dabei um die CO-Gruppe neben dem Dreiring). In den Spektren der 5 $\beta$ -Verbindungen liefert dieses Fragment der Massenzahl 274 den intensivsten Peak. Der intensivste Peak von **4a** liegt bei der Massenzahl 260 (M-84). Ein metastabiler Peak bei der Massenzahl 197 deutet darauf hin, daß dieses Fragment direkt aus dem Molekül-Ion entstanden ist, und zwar sehr wahrscheinlich durch Bruch der Bindungen zwischen C-10/C-1 und C-4/C-5 unter gleichzeitiger Übertragung zweier H-Atome vom Ion auf das ungeladene Bruchstück. Der intensivste Peak von **4b** entsteht aus dem Molekül-Ion durch Abspaltung von einem Molekül Essigsäure.

In den Spektren von **6a** und **6b** ist das Bruchstück bei M-42 nur noch wenig intensiv, dafür tritt ein sehr intensives Bruchstück bei M-28 auf. Überraschend ist, daß in den Spektren von **6a** und **6b** die Intensität des Fragments mit der Masse M-(42 + 28) nur noch kleiner als 1% ist.

Man findet also bei allen untersuchten 1.2-Methylen-androstanen die Abspaltung von 42 Masseneinheiten aus dem Molekül-Ion. Bei 1.2-Methylen-androstanonen-(3) folgt dieser Fragmentierung die weitere Abspaltung von 28 Masseneinheiten, bei 1.2-Methylen- $\Delta^4$ -androstenonen-(3) überwiegt die Abspaltung von 28 Masseneinheiten. Die Spektren der stereoisomeren Verbindungen unterscheiden sich, was die Intensität der Bruchstücke anbetrifft, zum Teil sehr erheblich.

Die untersuchten Verbindungen wurden im Hauptlaboratorium der Schering AG dargestellt<sup>6)</sup>.

Die NMR-Spektren in ca. 0.2 molaren Lösungen in  $\text{CDCl}_3$  wurden mit einem Varian A-60-Gerät aufgenommen. Tetramethylsilan diente als interner Standard.

Die Massenspektren nahm man mit einem  $\text{CH}_4$ -Gerät der Atlas Werke auf. Die festen Verbindungen wurden mit einer Schleuse direkt in die Ionenquelle (TO 4) eingebracht und dort bei ca. 70° verdampft. Die Ionisationsenergie betrug bei den Spektren von **6a** und **6b** 20 EV, sonst 70 EV.

---

<sup>6)</sup> R. Wiechert, O. Engelfried, U. Kerb, H. Laurent, Hans Müller und G. Schulz, Chem. Ber. **99**, 1118 (1966), vorstehend.