

CHROM. 13,305

“REVERSED-PHASE”-DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE VON STEROIDEN

I. BESTIMMUNG UND INTERPRETATION VON R_M -WERTEN

JOACHIM DRAFFEHN*, BRUNO SCHÖNECKER und KURT PONSOLD

Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der Akademie der Wissenschaften der DDR, Abteilung Steroidsynthese, Beutenbergstrasse 11, 69 Jena (D.D.R.)

(Eingegangen am 12. August 1980)

SUMMARY

Reversed-phase thin-layer chromatography of steroids. I. Measurement and interpretation of R_M values.

R_M values of about one hundred steroids with hetero substituents have been measured, using reversed-phase thin-layer chromatography. Silica gel (PF₂₅₄)-silanised served as the stationary non-polar phase and acetone in various mixtures with water as the mobile polar phase.

The ΔR_M values of substituents have been calculated and correlated with different parameters of hydrophobicity (π_{ar} , π_{al} , V_L). Neighbouring effects were investigated.

EINLEITUNG

Für das Verständnis der biologischen Wirkung von Arzneimitteln — besonders für das Auffinden Quantitativer Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSAR)— ist die Kenntnis der Hydrophobizität dieser Verbindungen sehr wesentlich. Als Hydrophobizitätsparameter werden dabei verschiedene Größen eingesetzt, wie z.B.:
die Logarithmen von Verteilungskoeffizienten

$$\log P = \log c^O - \log c^W \quad (1)$$

wobei vielfach *n*-Octanol als organische Phase verwendet wird¹,
die Logarithmen von Verteilungskoeffizienten bezüglich eines Substituenten X^{1-3}

$$\pi = \log P_X - \log P_H \quad (2)$$

R_M - und ΔR_M -Werte⁴

$$R_M = \log (1/R_F - 1) \quad (3)$$

$$\Delta R_M = R_M(X) - R_M(H) \quad (4)$$

f -Werte nach Nys und Rekker^{5,6} aus

$$\log P = \sum_i a_i f_i \quad (5)$$

V_L -Werte nach Moriguchi *et al.*⁷, die sich nach Gl. 6 aus den Van der Waals-Volumina (V_w) und Polaritätsinkrementen (V_H) bestimmter Atomgruppen zusammensetzen

$$V_L = V_w - V_H \quad (6)$$

Logarithmen von Wasserlöslichkeiten und

Werte, die ein Mass für die Molekülgrösse darstellen (Molekülvolumina, Molekülrefraktion, Parachor, Moleküloberfläche).

Bei der Auswahl eines Hydrophobizitätsparameters für die QSAR muss beachtet werden, dass

(1) Konstanten, die ein Mass für die Molekülgrösse darstellen, nur verwendet werden können, wenn sich der elektronische Einfluss innerhalb einer homologen Reihe nur wenig ändert,

(2) Hydrophobizitätsinkremente wie π - oder f -Werte sich nur im Idealfall additiv verhalten und

(3) der Verteilungskoeffizient zwischen einer organischen und einer wässrigen Phase experimentell schwierig zu bestimmen ist, wenn sich die Löslichkeiten der zu verteilenden Substanz in den Phasen extrem stark unterscheiden.

Aus diesen Gründen wurden die R_M -Werte, die z.B. von Biagi und Mitarbeitern^{4,8-15} mit Erfolg in die QSAR eingeführt und von Tomlinson ausführlich diskutiert wurden¹⁶, für die vorliegenden Steroidhormonanaloga bestimmt.

Ausser als Einflussgrösse in der QSAR sollte die Verwendbarkeit anderer tabellierter Parameter zur Beschreibung der Hydrophobizität von Steroiden überprüft werden.

EXPERIMENTELLES

Bestimmung der R_M -Werte

Glasplatten (200 × 100 mm) wurden sorgfältig mit Kieselgel PF₂₅₄-silanisiert (Merck, Darmstadt, B.R.D.) beschichtet (Schichtdicke 0.5 mm). Nach der Lufttrocknung wurden die Platten bei 105°C im Trockenschrank 0.5 h aktiviert. Jeweils wurden 0.1 mg Substanz aufgetragen. Als mobile Phase wurde ein Aceton-Wassergemisch mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen (40–70 % (v/v) Aceton) verwendet. Nach der Gleichung $k = z_f^2/t$ wurde die Geschwindigkeitskonstante (k) für die Wanderungsgeschwindigkeit der Laufmittelfront ermittelt (z_f = Distanz Laufmittelfront–Eintauchtiefe (cm), t = Zeit (min)). Sie betrug bei einer Temperatur von 296°K: $k_{296} = 1.48 \pm 0.06$ cm²/min. Die Geschwindigkeitskonstante ist bei dieser Temperatur nicht wesentlich von der Zusammensetzung der mobilen Phase abhängig. Damit ergab sich für die Strecke von durchschnittlich 18.5 cm eine Entwicklungszeit von $t \approx 4$ h. Nach dem Anstossen der Laufmittelfront an die obere Schichtkante wurden die Platten noch eine Stunde im Chromatographiegefäss gelassen. Die Gesamtentwicklungszeit betrug 5 h. Die Sichtbarmachung der Flecken erfolgte durch Besprühen mit Vanillin-

Schwefelsäure und anschliessender Erwärmung. Es wurden drei Doppelbestimmungen bei vier verschiedenen Acetonkonzentrationen durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit war nicht schlechter als 0.03 R_F -Einheiten.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

R_M - und ΔR_M -Werte

Trägt man die R_M -Werte gegenüber dem Gehalt der organischen Komponente (LM) im Laufmittel auf, so ergibt sich ein linearer Zusammenhang:

$$R_M = a - bz_{LM} \tag{7}$$

mit

$$z_{LM} = V_{LM}/(V_{LM} + V_{H_2O}) \tag{8}$$

Die Ausgleichsgeraden entsprechend Gl. 7 wurden berechnet (Tabelle I und II).

Zunächst wurden die R_M -Werte von Testosteron ($R_M[0]^* = 1.24$; $R_M[0.45]^* = 0.41$), Testosteronpropionat ($R_M[0] = 2.59$; $R_M[0.45] = 1.04$), Testosteronönanthrat ($R_M[0] = 3.96$; $R_M[0.45] = 1.62$), 19-Nortestosteron ($R_M[0] = 1.20$; $R_M[0.45] = 0.38$) und Androstenolon ($R_M[0] = 1.50$; $R_M[0.45] = 0.52$) bestimmt und mit Werten von Biagi *et al.*¹⁵ verglichen:

$$R_M[0]_{\text{Biagi}} = 0.079(\pm 0.249) + 1.222(\pm 0.106) R_M[0]_{\text{DRA}} \tag{9}$$

$n = 5$; $r = 0.998$; $t = 27.09$; $\alpha < 0.001$

$$R_M[0.45]_{\text{B}} = -1.022(\pm 0.087) + 1.277(\pm 0.094) R_M[0.45]_{\text{D}} \tag{10}$$

$n = 5$; $r = 0.999$; $t = 31.70$; $\alpha < 0.001$

n bezeichnete den Stichprobenumfang, r den Korrelationskoeffizienten, t den t -Test nach Student und α das Vertrauensintervall. Wie ersichtlich ist, besteht eine enge Beziehung zwischen den Werten von Biagi, bei deren Bestimmung Kieselgel G als stationäre Phase mit Silikonöl behandelt wurde, und den nach der beschriebenen Methode ermittelten Werten.

Folgende Substanzklassen wurden untersucht:

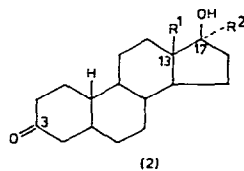
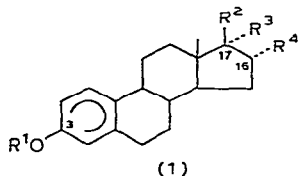


Fig. 1. (1) 16 α -Substituierte Östra-1,3,5(10)-triene^{17,18}. $R^1 = \text{H, CH}_3$; $R^2 = \text{H, OH}$; $R^3 = \text{H}$; $R^4 = \text{X}$ (Substanzklasse I, Verbindungen 1–30; Tabelle I). 17 α -CH₂X-substituierte Östra-1,3,5(10)-

triene¹⁹. $R^1 = \text{H, CH}_3$; $R^2 = \text{OCOC}_2\text{H}_5, \text{OCOCH}_3, \text{OH}$; $R^3 = \text{C}\equiv\text{CH, CH}_2\text{X}$; $R^4 = \text{H}$

(Substanzklasse II, Verbindungen 31–61; Tabelle I). 17 β -Carbamoyloxy-östra-1,3,5(10)-triene²⁰. $R^1 = \text{H, CH}_3$; $R^2 = \text{X}$; $R^3 = \text{H}$; $R^4 = \text{H, Br}$ (Substanzklasse III, Verbindungen 62–86; Tabelle I). (2) 19-Nortestosteronderivate²¹. Δ^4 ; Δ^5 ; Δ^2 und $\Delta^{5(10)}$ (statt 3-Keto 3OCH₃); Δ^4 und Δ^9 ; $R^1 = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$; $R^2 = \text{H, CH}_2\text{X}$ (Substanzklasse IV; Verbindungen 1a–12a, Tabelle II).

* Die Zahlen in den eckigen Klammern beziehen sich auf den Volumenbruch z_{LM} des Acetons entsprechend Gl. 8. $R_M[0]$ wurde durch Extrapolation (Gl. 7) auf Wasser als Laufmittel erhalten.

Tabelle I und II enthalten die Regressionskoeffizienten a und b entsprechend Gl. 7, den Korrelationskoeffizienten r und die R_M -Werte bezüglich einem Volumenbruch des Acetons von 0 und 0.45.

TABELLE I

 R_M -WERTE VON STEROIDHORMONANALOGA (R^1 , R^2 , R^3 UND R^4 ENTSPRECHEND FIG. 1, (1))



Nr.	R^1	R^2	R^3	R^4	a	b	r	α	R_M [0]	R_M [0.45]
1	CH ₃	OH	H	H	2.310	3.281	0.968	0.2	2.31	0.86
2	CH ₃	OH	H	OH	1.536	2.257	0.905	2.0	1.54	0.52
3	CH ₃	OH	H	Br	2.382	3.106	0.983	1.0	2.38	0.98
4	CH ₃	OH	H	N ₃	2.396	3.167	0.985	0.2	2.40	0.97
5	CH ₃	OH	H	SCN	2.386	3.428	0.984	1.0	2.39	0.84
6	CH ₃	OH	H	SeCN	2.478	3.518	0.988	0.2	2.48	0.98
7	CH ₃	OH	H	SC ₂ H ₅	2.610	3.539	0.993	0.2	2.61	1.02
8	CH ₃	OH	H	NHCOCH ₃	1.635	2.510	0.986	0.2	1.64	0.50
9	CH ₃	OH	H	NCS	3.146	4.313	0.990	0.1	3.16	1.22
10	CH ₃	OH	H	CH ₂ OH	1.951	3.029	0.981	0.1	1.95	0.59
11	CH ₃	OH	H	SO ₂ CH ₂ Ph	2.575	3.635	0.994	0.1	2.58	0.94
12	CH ₃	OH	H	SH	2.285	3.131	0.983	0.2	2.28	0.88
13	CH ₃	OH	H	SCH ₂ Ph	3.678	5.074	0.990	0.1	3.68	1.40
14	CH ₃	OH	H	CH ₃	2.877	4.110	0.989	0.1	2.88	1.03
15	H	OH	H	H	1.803	2.804	0.987	0.1	1.80	0.54
16	H	OH	H	OH	1.245	2.423	0.983	0.1	1.24	0.16
17	H	OH	H	Br	2.247	3.380	0.983	0.1	2.25	0.73
18	H	OH	H	N ₃	1.850	2.646	0.980	1.0	1.85	0.66
19	H	OH	H	SCN	1.735	2.616	0.997	0.1	1.74	0.56
20	H	OH	H	SeCN	1.743	2.673	0.990	0.1	1.74	0.54
21	H	OH	H	SC ₂ H ₅	2.043	2.992	0.994	0.1	2.04	0.70
22	H	OH	H	NHCOCH ₃	1.021	1.959	0.988	0.1	1.02	0.14
23	CH ₃	H	H	H	3.814	4.970	0.987	0.2	3.81	1.58
24	CH ₃	H	H	OH	2.194	3.109	0.987	0.2	2.19	0.80
25	CH ₃	H	H	Br	3.778	4.838	0.970	1.0	3.78	1.60
26	CH ₃	H	H	N ₃	3.622	4.627	0.962	1.0	3.62	1.54
27	CH ₃	H	H	SCN	3.235	4.360	0.993	0.1	3.24	1.27
28	CH ₃	H	H	SeCN	3.564	4.932	0.992	0.1	3.56	1.34
29	CH ₃	H	H	NHCOCH ₃	2.130	3.015	0.990	0.1	2.13	0.77
30	CH ₃	H	H	SH	3.558	4.751	0.993	0.1	3.56	1.42
31	CH ₃	OH	CH ₃	H	2.424	3.415	0.991	0.1	2.42	0.89
32	CH ₃	OH	CH ₂ CN	H	2.188	3.152	0.993	0.1	2.19	0.77
33	CH ₃	OH	CH ₂ OH	H	1.808	2.177	0.988	0.1	1.81	0.59
34	CH ₃	OH	CH ₂ Br	H	2.715	3.754	0.990	0.1	2.72	1.03
35	CH ₃	OH	CH ₂ NHCOCH ₃	H	1.308	1.854	0.987	1.0	1.31	0.47
36	CH ₃	OH	CH ₂ OCH ₃	H	2.132	2.882	0.987	1.0	2.13	0.84
37	CH ₃	OH	CH ₂ Cl	H	2.546	3.466	0.988	0.2	2.55	0.99
38	CH ₃	OH	CH ₂ N ₃	H	2.626	3.566	0.993	0.1	2.63	1.02
39	CH ₃	OH	CH ₂ OCOCH ₃	H	2.102	2.961	0.978	1.0	2.10	0.77
40	CH ₃	OH	CH ₂ OC ₂ H ₅	H	2.497	3.378	0.983	1.0	2.50	0.98
41	CH ₃	OH	CH ₂ NHCH ₃	H	2.520	3.072	0.958	1.0	2.52	1.14
42	CH ₃	OH	CH ₂ N(Ph)COCH ₃	H	2.825	3.914	0.971	1.0	2.82	1.06
43	CH ₃	OH	CH ₂ N 	H	2.281	2.821	0.990	0.2	2.28	1.01

TABELLE I (Fortsetzung)

Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	a	b	r	α	R _M [0]	R _M [0.45]
44	CH ₃	OH	CH ₂ O(CH ₂) ₂ OH	H	1.889	2.763	0.992	0.1	1.89	0.65
45	CH ₃	OH	CH ₂ S(CH ₂) ₂ OH	H	2.026	2.898	0.989	0.2	2.02	0.72
46	CH ₃	OH	CH ₂ NHCH ₂ Ph	H	3.291	4.468	0.992	0.1	3.29	1.28
47	CH ₃	OH	CH ₂ SCH ₂ Ph	H	3.515	4.781	0.986	0.2	3.52	1.36
48	H	OH	CH ₂ SCN	H	1.852	2.677	0.988	0.2	1.85	0.65
49	H	OH	CH ₂ OCH ₃	H	1.786	2.680	0.993	0.1	1.79	0.58
50	H	OH	CH ₂ Br	H	2.190	3.150	0.994	0.1	2.19	0.77
51	H	OH	CH ₂ CN	H	1.620	2.528	0.994	0.1	1.62	0.48
52	H	OH	CH ₂ N ₃	H	2.154	3.122	0.996	0.1	2.15	0.75
52a	H	OH	C≡CH	H	1.730	2.597	0.990	0.2	1.73	0.56
53	CH ₃	OTHP*	CH ₂ SCN	H	3.659	5.063	0.990	0.2	3.66	1.38
54	CH ₃	OTHP	CH ₂ OCH ₃	H	2.150	2.780	0.983	0.2	2.15	0.90
55	CH ₃	OTHP	CH ₂ CN	H	2.136	2.280	0.970	0.2	2.14	1.11
56	CH ₃	OCOC ₂ H ₅	CH ₂ N ₃	H	3.768	4.880	0.991	0.1	3.77	1.57
57	CH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ SCN	H	3.046	3.959	0.992	0.1	3.05	1.26
58	CH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ OCH ₃	H	2.476	3.154	0.989	0.2	2.48	1.06
59	CH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ CN	H	2.293	2.740	0.991	0.1	2.29	1.06
60	CH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ N ₃	H	3.379	4.383	0.988	0.2	3.38	1.41
61	H	OCOCH ₃	CH ₂ N ₃	H	2.593	3.469	0.996	0.1	2.59	1.03
62	CH ₃	OCONHN(CH ₃) ₂	H	Br	2.785	3.802	0.989	0.2	2.78	1.08
63	CH ₃	OCONH-cC ₆ H ₁₁	H	Br	5.251	7.185	0.982	1.0	4.38	3.18
64	CH ₃	OCONHNHTs**	H	Br	3.814	5.223	0.987	0.2	3.81	1.46
65	CH ₃	OCONH-Naphth.	H	Br	5.136	7.064	0.980	1.0	5.14	1.96
66	CH ₃	OCONHC ₂ H ₅	H	Br	3.606	4.948	0.978	1.0	3.61	1.38
67	CH ₃	OCONHCH ₂ Ph	H	Br	4.214	5.675	0.996	0.1	4.21	1.66
68	CH ₃	OCONHN=C(CH ₃) ₂	H	Br	2.666	3.655	0.988	0.2	2.67	1.02
69	CH ₃	OCONHNPh	H	Br	3.854	5.191	0.992	0.2	3.85	1.52
70	CH ₃	OCONHPh	H	Br	4.312	5.729	0.985	0.2	4.31	1.73
71	CH ₃	CONH ₂	H	Br	2.708	3.657	0.938	2.0	2.71	1.06
72	CH ₃		H	—	3.609	4.826	0.997	0.1	3.61	1.44
73	CH ₃	OCOCl	H	Br	4.010	5.207	0.980	0.2	4.01	1.67
74	CH ₃	OCONHCH ₂ COOEt	H	Br	3.433	4.640	0.986	0.2	3.43	1.34
75	CH ₃	OCOC ₂ H ₅	H	Br	3.966	5.226	0.992	0.1	3.97	1.62
76	CH ₃	CON ₃	H	Br	3.273	3.812	0.990	0.1	3.27	1.56
77	CH ₃	OCONHN=C(CH ₃) ₂	H	H	3.184	4.483	0.981	1.0	3.18	1.17
78	CH ₃	OCONHNHTs	H	H	4.780	6.784	0.982	1.0	4.78	1.73
79	CH ₃	OCONHN(CH ₃) ₂	H	H	3.089	4.276	0.985	0.2	3.09	1.16
80	CH ₃	OCONH-cC ₆ H ₁₁	H	H	4.382	5.886	0.982	0.2	4.38	2.02
81	CH ₃	CONHTs	H	H	1.651	2.242	0.952	0.2	1.65	0.64
82	CH ₃	CONHPh	H	H	4.167	5.601	0.996	0.1	4.17	1.65
83	CH ₃	CONH-Naphth.	H	H	4.603	6.240	0.994	0.1	4.60	1.80
84	CH ₃	CONHCH ₂ Ph	H	H	4.033	5.457	0.986	0.2	4.03	1.58
85	H	CONHN(CH ₃) ₂	H	H	1.862	2.714	0.997	0.1	1.86	0.64
86	CH ₃	CON ₃	H	H	2.619	3.404	0.986	0.1	2.62	1.09

* OTHP = Tetrahydropyranylether.

** Ts = Tosylat.

TABELLE II

 R_M -WERTE VON STEROIDHORMONANALOGA (R^1 UND R^2 ENTSPRECHEND FIG. 1, (2))

Nr.	Δ	R^1	R^2	a	b	r	α	$R_M[0]$	$R_M[0.45]$
1a	4,5 und 9,10	CH ₃	CH ₂ CN	1.006	1.684	0.987	0.2	1.01	0.25
2a	4,5	CH ₃	CH ₂ N ₃	1.170	0.996	0.976	1.0	1.17	0.72
3a	4,5	C ₂ H ₅	CH ₂ N ₃	1.760	2.404	0.995	0.1	1.76	0.68
4a	4,5 und 9,10	CH ₃	CH ₂ N ₃	1.669	2.194	0.988	0.2	1.67	0.68
5a	4,5 und 9,10	C ₂ H ₅	CH ₂ N ₃	1.558	2.120	0.973	1.0	1.56	0.60
6a	5,6	C ₂ H ₅	CH ₂ N ₃	2.150	2.918	0.992	0.1	2.15	0.84
7a*	2,3 und 5,10	CH ₃	CH ₂ N ₃	3.118	4.118	0.991	0.1	3.12	1.26
8a	4,5	CH ₃	CH ₂ NH ₂	1.118	0.930	0.980	1.0	1.12	0.70
9a	4,5	CH ₃	CH ₂ OCH ₃	1.147	1.650	0.976	1.0	1.15	0.40
10a	4,5	CH ₃	CH ₂ Br	1.550	2.144	0.981	1.0	1.55	0.60
11a	4,5	CH ₃	CH ₂ Cl	1.557	2.194	0.982	1.0	1.56	0.57
12a	4,5	CH ₃	H	1.238	1.841	0.972	1.0	1.24	0.41

* 3-OCH.

Ein den π -Werten analoges, im Idealfall ebenfalls additives Hydrophobizitätsinkrement lässt sich nach Gl. 11 definieren:

$$\Delta R_M(X) = R_M(X) - R_M(H) \quad (11)$$

$R_M(X)$ sind die Werte der mit X substituierten und $R_M(H)$ sind die Werte der unsubstituierten Verbindungen ($X = H$).

Für eine Reihe von Substituenten wurden die ΔR_M -Werte berechnet und in Tabelle III aufgeführt. Die Inkremente wurden unter Berücksichtigung der jeweils benachbarten Substituenten angegeben. "Berechnet aus" bedeutet, dass beispielsweise der ΔR_M -Wert der 16 α -OH-Gruppe aus der Differenz der R_M -Werte der Verbindung 24 und 23 (Tabelle I) errechnet wurde.

Es zeigt sich, dass die ΔR_M -Werte für einen bestimmten Substituenten vom "Restmolekül" abhängen. Von Biagi wurde ebenfalls die Abhängigkeit der ΔR_M -Werte von Stellung und Konfiguration des Substituenten nachgewiesen.

Weiterhin fällt auf, dass die ΔR_M -Werte für die Methylgruppe der 3-Methoxygruppe bezüglich $\Delta R_M[0]$ stärker streuen als die bezüglich $\Delta R_M[0.45]$: $\overline{R_M[0]}(3\text{-O-CH}_3) = 0.52 \pm 0.18$; relativer Fehler: 34.6%; $\overline{R_M[0.45]}(3\text{-O-CH}_3) = 0.31 \pm 0.04$; relativer Fehler: 12.9%. Um Aussagen darüber machen zu können, ob die ΔR_M -Werte bei einer bestimmten Acetonkonzentration denen einer anderen vorzuziehen sind, wurden die ΔR_M -Werte für 16 α -substituierte Östradiol-3-methylether sowie 16 α -substituierte Östradiole für verschiedene Acetonkonzentrationen ermittelt und jeweils miteinander korreliert. Fig. 2 zeigt den Auftrag der Korrelationskoeffizienten gegenüber der Acetonkonzentration.

Es ist ersichtlich, dass die bei einer Acetonkonzentration um 50% (v/v) erhaltenen R_M -Werte zur Beschreibung von Hydrophobizitäten der untersuchten Steroide am besten geeignet sein sollten. Der steile Abfall der Kurve für $z_{LM} > 0.5$ ist eventuell damit erklärbar, dass mit Erhöhung der Acetonkonzentration im Laufmittel auch der Anteil des Acetons in der Mischsolvathülle um das zu verteilende Steroid gegenüber dem Wasseranteil zunimmt und der R_M -Wert nicht mehr die Eigenschaft eines Ver-


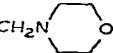
TABELLE III

ΔR_M -WERTE VON SUBSTITUENTEN AM STEROIDGRUNDGERÜST

Position	Substituent	Berechnet aus	ΔR_M [0]	ΔR_M [0.45]	Nachbargruppe
16 α	OH	24-23 2-1	-1.62 -0.77	-0.78 -0.34	- 17 β OH
		16-15	-0.56	-0.38	17 β OH
17 β	OH	1-23 2-24	-1.50 -0.65	-0.72 -0.28	- 16 α OH
		3-25	-1.40	-0.62	16 α Br
		4-26	-1.22	-0.57	16 α N ₃
		5-27	-0.85	-0.43	16 α SCN
		6-28	-1.08	-0.34	16 α SeCN
		8-29	-0.49	-0.27	16 α NHCOCH ₃
		12-30	-1.28	-0.54	16 α SH
17 α -(CH ₂)-	OH	33-31	-0.61	-0.30	17 β OH
16 α	Br	25-23	-0.03	0.02	-
		3-1	0.07	0.17	17 β OH
		17-15	0.45	0.19	17 β OH
		62-79	-0.31	-0.08	17 β OCONHN(CH ₃) ₂
		63-80	-0.87	-0.29	17 β OCONH-cC ₆ H ₁₁
		64-78	-0.97	-0.27	17 β OCONHNH-Ts.
		65-83	0.54	0.16	17 β OCONH-Naphth.
		67-84	0.18	0.08	17 β OCONHCH ₂ Ph
		68-77	-0.51	-0.15	17 β OCONHN=C(CH ₃) ₂
		70-82	0.14	0.08	17 β OCONHPh
		76-86	0.65	0.47	17 β OCON ₃
17 α -(CH ₂)-	Br	34-31	0.30	0.14	17 β OH
16 α	N ₃	26-23	-0.19	-0.04	-
		4-1	0.09	0.11	17 β OH
		18-15	0.05	0.12	17 β OH
17 α -(CH ₂)-	N ₃	38-31	0.21	0.13	17 β OH
16 α	SCN	27-23	-0.57	-0.31	-
		5-1	0.08	-0.02	17 β OH
		19-15	-0.06	0.02	17 β OH
16 α	SeCN	28-23	-0.25	-0.24	-
		6-1	0.17	0.04	17 β OH
		20-15	-0.06	0.00	17 β OH
16 α	SC ₂ H ₅	7-1	0.30	0.16	17 β OH
		21-15	0.24	0.14	17 β OH
16 α	NHCOCH ₃	29-23	-1.68	-0.81	-
		8-1	-0.67	-0.36	17 β OH
		22-15	-0.78	-0.40	17 β OH
17 α -(CH ₂)-	NHCOCH ₃	35-31	-1.11	-0.42	17 β OH
16 α	NCS	9-1	0.85	0.36	17 β OH
16 α	CH ₂ OH	10-1	-0.36	-0.27	17 β OH
17 α		33-1	-0.50	-0.27	17 β OH
16 α	SO ₂ CH ₂ Ph	11-1	0.27	0.08	17 β OH
16 α	SH	30-23	-0.25	-0.16	-
16 α	SCH ₂ Ph	13-1	1.37	0.54	17 β OH
17 α -(CH ₂)-		47-31	1.10	0.47	17 β OH
17 α -(CH ₂)-	CN	32-31	-0.23	-0.12	17 β OH
	OCH ₃	36-31	-0.29	-0.05	17 β OH
	Cl	37-31	0.13	0.10	17 β OH
	OCOCH ₃	39-31	-0.32	-0.12	17 β OH
	OC ₂ H ₅	40-31	0.08	0.09	17 β OH

(Fortsetzung S. 120)

TABELLE III (Fortsetzung)

Position	Substituent	Berechnet aus	ΔR_M [0]	ΔR_M [0.45]	Nachbargruppe
	NHCH ₃	41-31	0.10	0.25	17 β OH
	N(Ph)COCH ₃	42-31	0.40	0.17	17 β OH
		43-31	-0.14	0.12	17 β OH
	O(CH ₂) ₂ OH	44-31	-0.53	-0.24	17 β OH
	S(CH ₂) ₂ OH	45-31	-0.40	-0.17	17 β OH
	NHCH ₂ Ph	46-31	0.87	0.39	17 β OH
17 α	CH ₂ CN	32-1	-0.12	-0.09	17 β OH
		51-15	-0.18	-0.06	17 β OH
	CH ₂ Br	34-1	0.41	0.17	17 β OH
		50-15	0.39	0.23	17 β OH
		10-12a	0.21	0.13	17 β OH
	CH ₂ NHCOCH ₃	35-1	-1.00	-0.39	17 β OH
	CH ₂ OCH ₃	36-1	-0.18	-0.02	17 β OH
		49-15	-0.01	0.04	17 β OH
		9a-12a	-0.19	-0.07	17 β OH
	CH ₂ Cl	37-1	0.24	0.13	17 β OH
		11a-12a	0.22	0.10	17 β OH
17 α	CH ₂ N ₃	38-1	0.32	0.16	17 β OH
		52-15	0.35	0.21	17 β OH
		2a-12a	-0.17	0.25	17 β OH
	CH ₂ OCOCH ₃	39-1	-0.21	-0.09	17 β OH
	CH ₂ OC ₂ H ₅	40-1	0.19	0.12	17 β OH
	CH ₂ NHCH ₃	41-1	0.21	0.28	17 β OH
	CH ₂ N(Ph)COCH ₃	42-1	0.51	0.20	17 β OH
		43-1	-0.03	0.15	17 β OH
	CH ₂ O(CH ₂) ₂ OH	44-1	-0.42	-0.21	17 β OH
	CH ₂ S(CH ₂) ₂ OH	45-1	-0.29	-0.14	17 β OH
	CH ₂ NHCH ₂ Ph	46-1	0.98	0.42	17 β OH
	CH ₂ SCH ₂ Ph	47-1	1.21	0.50	17 β OH
	CH ₂ SCN	48-15	0.05	0.11	17 β OH
	CH ₂ NH ₂	8a-12a	-0.20	0.23	17 β OH
17 β -(O)-	THP	54-36	0.14	0.39	17 α CH ₂ OCH ₃
		55-32	-0.05	0.34	17 α CH ₂ CN
	COCH ₃	60-38	0.75	0.39	17 α CH ₂ N ₃
		61-52	0.44	0.28	17 α CH ₂ N ₃
		58-36	0.35	0.22	17 α CH ₂ OCH ₃
		59-32	0.10	0.29	17 α CH ₂ CN
	COC ₂ H ₅	56-38	1.14	0.55	17 α CH ₂ N ₃
16 α	CH ₃	14-1	0.57	0.17	17 β OH
17 α		31-1	0.11	0.03	17 β OH
3-(O)-		1-15	0.51	0.32	—
		2-16	0.30	0.36	—
		3-17	0.13	0.25	—
		4-18	0.55	0.31	—
		5-19	0.65	0.28	—
		6-20	0.74	0.36	—
		7-21	0.57	0.32	—
		8-22	0.62	0.36	—
		32-51	0.57	0.29	—
		54-50	0.53	0.26	—
		36-49	0.34	0.26	—
		38-52	0.48	0.27	—
		60-61	0.79	0.38	—

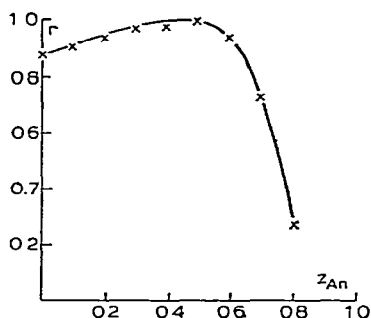


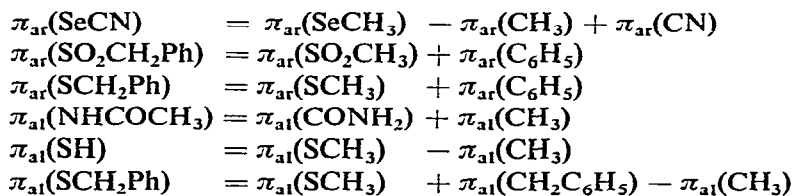
Fig. 2. Abhängigkeit des Korrelationskoeffizienten r (Korrelation der R_M -Werte 16 α -subst. Östradiol-3-methylether mit R_M -Werten 16 α -subst. Östradiole) von der Acetonkonzentration in der mobilen Phase.

teilungskoeffizienten besitzt. Die leichte Verschlechterung der Korrelation für $z_{LM} < 0.5$ ist eventuell auf Fehler bei der Interpolation auf die unendliche Acetonverdünnung zurückführbar²².

Korrelation der ΔR_M -Werte mit anderen Hydrophobizitätsparametern

Durch Korrelation der ΔR_M -Werte mit "tabellierten" Hydrophobizitätsparametern sollte ermittelt werden, ob letztere für eine Beschreibung der Hydrophobizität nicht synthetisierter Steroidverbindungen der angegebenen Strukturtypen zu verwenden sind. Da sich die aus Verteilungskoeffizienten von aromatischen Verbindungen berechneten π -Werte (π_{ar}) von den aus Verteilungskoeffizienten aliphatischer Verbindungen berechneten (π_{al}) unterscheiden^{1,23}, sollte zunächst überprüft werden, ob signifikante Unterschiede in den Korrelationsrechnungen der ΔR_M -Werte mit den unterschiedlichen π -Sätzen auftreten.

Die π -Werte wurden der zitierten Literatur entnommen, bzw. nach dem Additionsprinzip berechnet:



Gl. 12-23 (Tabelle IV) beschreiben den Zusammenhang zwischen den aromatischen bzw. aliphatischen π -Werten und den ΔR_M -Werten bei $z_{LM} = 0$ und $z_{LM} = 0.45$ für 16 α -substituierte Östra-1,3,5(10)-triene (Substanzklasse I).

Es ist ersichtlich, dass kein signifikanter Unterschied bei den untersuchten Verbindungen zwischen der Korrelation der "aromatischen" π -Werte mit den ΔR_M -Werten einerseits und den "aliphatischen" π -Werten und den ΔR_M -Werten andererseits besteht. Ein echter Vergleich ist jedoch nicht möglich, da Stichprobenauswahl und -umfang beider Serien voneinander abweichen. Da die experimentelle Bestimmung der R_M -Werte für $R^3 = \text{NH}_2$ nicht möglich war (Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrücken), wurden die ΔR_M -Werte berechnet; ($\pi_{ar}(\text{NH})_2 = -1.23$; $\pi_{al}(\text{NH})_2 =$

TABELLE IV

KORRELATION ZWISCHEN ΔR_M UND π

X_h = Hydrophobizitätsparameter; z_{LM} = Acetonkonzentration in %; n = Stichprobenumfang; r = Korrelationskoeffizient; t = t -Test nach Student; α = Vertrauensintervall.

R^*	X_h	z_{LM}	Gl.- Nr.	n^{**}	m^{**}	n	r	t	α
CH ₃ , OH, X	π_{ar}	0	12	-0.079 (± 0.118)	0.553 (± 0.120)	14	0.920	8.16	0.001
		45	13	-0.058 (± 0.038)	0.257 (± 0.038)	14	0.960	11.93	0.001
	π_{al}	0	14	-0.031 (± 0.088)	0.514 (± 0.081)	11	0.968	11.50	0.001
		45	15	-0.039 (± 0.033)	0.230 (± 0.031)	11	0.978	14.05	0.001
H, OH, X	π_{ar}	0	16	-0.194 (± 0.096)	0.539 (± 0.140)	8	0.951	7.52	0.001
		45	17	-0.098 (± 0.051)	0.308 (± 0.074)	8	0.957	8.07	0.001
	π_{al}	0	18	-0.052 (± 0.138)	0.503 (± 0.168)	6	0.955	6.41	0.010
		45	19	-0.035 (± 0.057)	0.281 (± 0.069)	6	0.975	8.85	0.001
CH ₃ , H, X	π_{ar}	0	20	-0.681 (± 0.234)	0.983 (± 0.394)	8	0.870	4.33	0.010
		45	21	-0.341 (± 0.119)	0.469 (± 0.119)	8	0.880	4.55	0.010
	π_{al}	0	22	-0.392 (± 0.259)	1.005 (± 0.356)	6	0.948	5.59	0.010
		45	23	-0.195 (± 0.121)	0.488 (± 0.167)	6	0.952	6.20	0.010

* Reihenfolge der Substituenten: R¹, R² und R³, entsprechend Fig. 1 (1).

** Entsprechend der Gleichung: $\Delta R_M = n + mX_h$.

-1.16); $\Delta R_M[0](16\alpha\text{NH}_2) = -0.81 \pm 0.14$ (berechnet nach Gl. 13, 14, 16, 18; Nachbargruppe: 17 β OH); $\Delta R_M[0.45](16\alpha\text{NH}_2) = -0.41 \pm 0.08$ (berechnet nach Gl. 13, 15, 17, 19; Nachbargruppe: 17 β OH); $\Delta R_M[0](16\alpha\text{NH}_2)_2 = -1.72$ (berechnet nach Gl. 20 und 22; keine Nachbargruppe); $\Delta R_M[0.45](16\alpha\text{NH}_2) = -0.84$ (berechnet nach Gl. 21 und 23; keine Nachbargruppe).

Es wurde schon darauf hingewiesen, dass Parameter, die die Substituentengröße beschreiben, nur dann ein Hydrophobizitätsmass darstellen, wenn elektronische Effekte eine untergeordnete Rolle spielen. Von Moriguchi *et al.*⁷ wurde ein Inkrementensystem für den polaren Effekt (V_H) von Substituenten aufgestellt, das in Verbindung mit dem Van der Waals-Volumen (V_W) des Substituenten einen Ausdruck für dessen Hydrophobizität (V_L) liefert (Gl. 6). V_L -Werte wurden entsprechend der zitierten Literatur berechnet und mit ΔR_M -Werten korreliert (Tabelle V). In Tabelle V

TABELLE V

KORRELATION ZWISCHEN ΔR_M UND V_L

	z_{LM}	Gl.- Nr.	n^*	m^*	n	r	t	α
Substanzklasse I								
CH ₃ , OH, X	0	24	-0.074 (± 0.136)	1.415 (± 0.348)	11	0.950	9.13	0.001
	45	25	-0.049 (± 0.027)	0.658 (± 0.068)	11	0.995	21.05	0.001
H, OH, X	0	26	-0.124 (± 0.118)	1.061 (± 0.318)	5	0.987	10.64	0.001
	45	27	-0.068 (± 0.057)	0.651 (± 0.156)	5	0.992	13.61	0.001
CH ₃ , H, X	0	28	-0.551 (± 0.309)	2.139 (± 0.945)	6	0.953	6.29	0.010
	45	29	-0.256 (± 0.142)	1.059 (± 0.142)	6	0.959	6.77	0.010
Substanzklasse II	0	30	0.134 (± 0.137)	1.286 (± 0.349)	16	0.904	7.91	0.001
	45	31	0.057 (± 0.091)	1.151 (± 0.241)	16	0.959	12.66	0.001
Substanzklasse III	0	32	0.266 (± 0.288)	1.607 (± 0.321)	11	0.959	10.15	0.001
	45	33	0.134 (± 0.106)	0.601 (± 0.156)	11	0.939	8.19	0.001

* Symbole entsprechen denen in Tabelle IV.

beziehen sich die Gl. 24–29 auf 16 α -heterosubstituierte Östra-1,3,5(10)-triene (Substanzklasse I), Gl. 30 und 31 auf 17 α -CH₂X-substituierte 3-Methoxy-17 β -hydroxy-östra-1,3,5(10)-triene (Substanzklasse II) und Gl. 32 und 33 auf 16 α -Brom-17 β -carbamoxyloxy-östra-1,3,5(10)-triene (Substanzklasse III).

Die hohe Signifikanz der Korrelation zwischen ΔR_M und V_L weist V_L als einen Parameter aus, der es gestattet, den hydrophoben Effekt noch nicht synthetisierter Verbindungen gut abzuschätzen. Weiterhin beweisen die Gleichungen eindeutig, dass sich die Hydrophobizität der untersuchten Verbindungen aus der Molekülgrösse und einem polaren Anteil zusammensetzt. Es ist ersichtlich, dass die $\Delta R_M[0.45]$ -Werte in der Regel signifikantere Gleichungen ergeben als die $\Delta R_M[0]$ -Werte.

Mit den Korrelationsgleichungen 24–31 wurde eine Reihe von aliphatischen Polaritätsinkrementen (V_H) berechnet, die in der Arbeit von Moriguchi *et al.* nicht enthalten sind.

Da

$$\Delta R_M = n + mV_L \quad (34)$$


ergibt sich mit Gl. 6 für V_H

$$V_H = V_W - (\Delta R_M - n)/m \quad (35)$$

In Tabelle VI sind die nach Gl. 35 berechneten Polaritätsinkremente enthalten.

TABELLE VI

MIT GL. 24–31 BERECHNETE ALIPHATISCHE POLARITÄTSINKREMENTE (V_H)

Gruppe	V_H ($10^2 A^3$)	n
Br	0.04 ± 0.11 ≈ 0.00	9
Cl	0.16 ± 0.04	4
N ₃	0.15 ± 0.08	10
SO ₂	1.01 ± 0.03	2
	0.84 ± 0.14	4
SCN	0.33 ± 0.06	6
SeCN	0.36 ± 0.06	6
NHCO	1.05 ± 0.08	7

Betrachtet man die Regressionskoeffizienten m der Gl. 12–29, so fällt auf, dass der Quotient aus den Regressionskoeffizienten bezüglich $\Delta R_M[0.45]$ ($m_{[0.45]}$) und $\Delta R_M[0]$ ($m_{[0]}$) nahezu konstant ist:

$$m_{[0.45]} / m_{[0]} = 0.51 \pm 0.06 \quad (36)$$

Nimmt man einerseits an, dass sich der Wasseranteil in der Mischsoivathülle, wie oben beschrieben, mit Vergrößerung der Acetonkonzentration im Laufmittel vermindert und andererseits die Änderung der Freien Enthalpie für den Übergang von der wässrigen in die organische Phase (stationäre Phase) aus der Loslösung der Wasserkontakte resultiert, kann die Konstanz des Quotienten $m_{[0.45]} / m_{[0]}$ derart interpretiert

werden, dass bei der Vergrößerung der Acetonkonzentration von $z_{LM} = 0$ auf $z_{LM} = 0.45$ sich die Anzahl der Wasserkontakte um etwa 50% verringert. Die Veränderung der Hydrophobizitätswerte mit Veränderung der Laufmittelzusammensetzung wird in einer weiteren Arbeit untersucht²⁴.

ZUSAMMENFASSUNG

Die R_M -Werte von ungefähr 100 Steroidhormonanaloga wurden mittels "reversed-phase"-Dünnschichtchromatographie bestimmt. Als stationäre unpolare Phase wurde silanisiertes Kieselgel (PF₂₅₄-silaniert) und als mobile polare Phase Aceton in verschiedenen Mischungsverhältnissen mit Wasser verwendet.

Von einer Reihe von Substituenten wurden die ΔR_M -Werte in Abhängigkeit von Nachbargruppen berechnet. Die ΔR_M -Werte korrelieren signifikant mit anderen Hydrophobizitätsparametern (π_{ar} , π_{al} , V_L). Dabei ergeben die ΔR_M -Werte bezüglich 45% Aceton im Gegensatz zu denen bezüglich 0% Aceton bessere Resultate.

Aus den Regressionsgleichungen konnten Aussagen zu der aus Wasser und Aceton bestehenden Mischsolvathülle abgeleitet und weitere Polaritätsinkremente (V_H) berechnet werden.

DANK

Wir danken Frau H. Draffehn und Frl. Chem. Ing. R. Sahn für ihre Unterstützung bei der Messung der R_M -Werte.

LITERATUR

- 1 A. Leo, C. Hansch und D. Elkins, *Chem. Rev.*, 71 (1971) 525.
- 2 T. Fujita, J. Iwasa und C. Hansch, *J. Amer. Chem. Soc.*, 86 (1964) 5125.
- 3 J. Iwasa, T. Fujita und C. Hansch, *J. Med. Chem.*, 8 (1965) 150.
- 4 G. L. Biagi, A. Barbaro, M. F. Gamba und M. C. Guerra, *J. Chromatogr.*, 41 (1969) 371.
- 5 G. G. Nys und R. F. Rekker, *Chim. Ther.*, 8 (1973) 521.
- 6 G. G. Nys und R. F. Rekker, *Chim. Ther.*, 9 (1974) 361.
- 7 I. Moriguchi, Y. Kanada und K. Kamatsu, *Chem. Pharm. Bull.*, 24 (1976) 1799.
- 8 G. L. Biagi, M. C. Guerra und A. M. Barbaro, *J. Med. Chem.*, 13 (1970) 944.
- 9 G. L. Biagi, A. M. Barbaro und M. Guerra, *Experientia*, 27 (1971) 918.
- 10 G. L. Biagi, A. M. Barbaro, M. C. Guerra und M. F. Gamba, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 195.
- 11 G. L. Biagi, M. C. Guerra und A. M. Barbaro, *Il Farmaco*, 25 (1970) 755.
- 12 G. L. Biagi, M. C. Guerra, A. M. Barbaro und M. F. Gamba, *J. Med. Chem.*, 13 (1970) 511.
- 13 O. Gandolfi, A. M. Barbaro und G. L. Biagi, *Experientia*, 29 (1973) 689.
- 14 G. L. Biagi, A. M. Barbaro, M. C. Guerra, G. C. Forti und M. E. Fracasso, *J. Med. Chem.*, 17 (1974) 28.
- 15 G. L. Biagi, O. Gandolfi, M. C. Guerra, A. M. Barbaro und G. Cantelli-Forti, *J. Med. Chem.*, 18 (1975) 868.
- 16 E. Tomlinson, *J. Chromatogr.*, 113 (1975) 1.
- 17 K. Ponsold, J. Schlegel, B. Schönecker und K. Schubert, *Pharmazie*, 30 (1975) 32.
- 18 B. Schönecker und K. Ponsold, *J. Prakt. Chem.*, 318 (1976) 483.
- 19 K. Ponsold, M. Hübner, R. Schnabel und J. Strecke, *Arzneim.-Forsch.*, 24 (1974) 896.
- 20 K. Ponsold, R. Schnabel, P. Grosse, J. Strecke und J. von Zychlinski, *Pharmazie*, 28 (1973) 371.
- 21 K. Ponsold, M. Hübner, H. Wagner und W. Schade, *Z. Chem.*, 18 (1978) 259.
- 22 K. Waisser und E. Spalenska, 3. Kongress der Ungarischen Pharmakologischen Gesellschaft, Budapest, 1979.
- 23 C. Hansch, A. Leo, S. H. Unger, K. H. Kim, D. Nakaitani und E. J. Lien, *J. Med. Chem.*, 16 (1973) 1207.
- 24 J. Draffehn, J. Schönecker und K. Ponsold, *J. Chromatogr.*, in Vorbereitung.