

# HANS HOFFMEISTER und CLEMENS RUFER

Zur Chemie des Ecdysons, IV<sup>1)</sup>

## Farbreaktionen von gesättigten und ungesättigten Steroidketonen

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

(Eingegangen am 4. November 1964)

Die Farbreaktionen von Steroidketonen — besonders von  $\Delta^{9(11)}$ -12-Ketonen,  $\Delta^{7-6}$ -Ketonen,  $\Delta^4$ -3-Ketonen und  $\Delta^{5(6)}$ -7-Ketonen — mit *m*-Dinitrobenzol (Zimmermann-Reagenz), 2,4-Dinitro-phenylhydrazin und Triphenyltetrazoliumchlorid werden untersucht. Die Kombination der Farbttests gibt eine schnelle Möglichkeit, die Lage einer Ketogruppe im Steroidgerüst zu bestimmen oder einzuengen. Im Fall des Ecdysons konnte von drei möglichen Ketonen die  $\Delta^4$ -3-Keton-Struktur ausgeschlossen werden.

Nach unseren bisherigen Untersuchungen am Insektenhormon Ecdyson konnten wir die Lage der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketogruppe im Steroidgerüst noch nicht sicher festlegen<sup>1,2,3)</sup>. In Frage kamen ein  $\Delta^4$ -3-Keton, ein  $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton, ein  $\Delta^{7-6}$ -Keton und ein  $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton. Eine einfache Methode, die Zahl der Möglichkeiten einzuengen, fanden wir in der Kombination der folgenden Farbttests: 1. ZIMMERMANN-Reaktion, 2. Reaktion mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin (DNPH), 3. Reaktion mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Die Tabelle enthält nur einen Teil der von uns untersuchten Stoffe. Viele andere Beispiele führten zu den gleichen Ergebnissen.

Für die Auftrennung und Identifizierung von Steroiden eignet sich die Dünnschichtchromatographie besonders gut. Wir haben daher die Farbttests auf Kieselgel-Platten durchgeführt.

### 1. DIE ZIMMERMANN-REAKTION

Die Reaktion von Steroidketonen mit *m*-Dinitrobenzol in Alkali zu violetten Farbstoffen wird häufig für qualitative und quantitative Bestimmungen von Steroiden benutzt. Eine moderne Erklärung der Reaktion gibt ZIMMERMANN 1961<sup>4)</sup>. Danach ist für eine positive Farbreaktion eine  $\text{CH}_2$ -Gruppe in Nachbarstellung zum Keton nötig. Diese aktive Methylengruppe darf aber sterisch nicht behindert sein. So berichteten KAZIRO et al.<sup>5)</sup> über Untersuchungen an partiell oxydierten Cholsäuren. Sie fanden, daß 6-, 7- und 12-Ketone der 5 $\beta$ -Reihe sowie ein 6-Keton der 5 $\alpha$ -Reihe nicht mit *m*-Dinitrobenzol reagieren. Bekannt ist dagegen, daß Ketone in 3-, 17- oder 20-Stellung eine positive Reaktion geben.

<sup>1)</sup> III. Mitteil.: H. HOFFMEISTER, C. RUFER, H. H. KELLER, H. SCHAIRER und P. KARLSON, Chem. Ber. **98**, 2361 [1965], vorstehend.

<sup>2)</sup> Dissertat. H. HOFFMEISTER, Univ. München 1963.

<sup>3)</sup> P. KARLSON, H. HOFFMEISTER, W. HOPPE und R. HUBER, Liebigs Ann. Chem. **662**, 1 [1963].

<sup>4)</sup> O. NEUNHOEFFER, K. THEWALT und W. ZIMMERMANN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **323**, 116 [1961].

<sup>5)</sup> K. KAZIRO und T. SHIMADA, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **249**, 220 [1937].

## Farbreaktionen von Steroiden

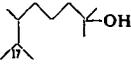
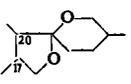
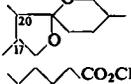
Nr.	Keton	$\Delta$	A,B-Ringverknüpfung	OH	OAc	Sonstige Substituenten	Seitenkette bzw. Gruppier. an C-17	Zimmermann-Test	DNP-Test	TTC-Test
I	3	—	<i>trans</i>	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	
II	3	5	—	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	
III	3	5	—	—	4 $\alpha$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	+	+
IV	3.6	7	<i>trans</i>	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	
V	3	4	—	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	
VI	3	4	—	—	—	—		+	+	
VII	3	4	—	—	—	—		+	+	+
VIII	3	4	—	—	—	—		+	+	+
IX	3	4	—	11 $\alpha$	—	—		+	+	+
X	3	4	—	11 $\beta$	—	—		+	+	
XI	3	4	—	6 $\beta$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	+
XII	3	4	—	—	6 $\beta$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	+
XIII	3	4	—	6 $\alpha$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	+
XIV	3	4	—	4	—	—		+	+	—
XV	3	4	—	—	2 $\beta$	—		—	+	+
XVI	3	4	—	2 $\alpha$	—	—		—	+	+
XVII	3.6	4	—	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	
XVIII	3	1	<i>trans</i>	—	—	—		+	+	
XIX	3	1	<i>trans</i>	—	—	1-CH <sub>3</sub>		+	+	
XX	3	1.4	—	—	—	—		—	+	
XXI	12	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	—		—	—	
XXII	12.20	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$ .16 $\alpha$	—		+	+	
XXIII	12	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$ .16 $\alpha$	—		—	—	
XXIV	12	9	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	—		—	—	
XXV	12	—	<i>cis</i>	—	—	3 $\alpha$ -Cath		—	—	

Tabelle (Fortsetzung)

Nr.	Keton	$\Delta$	A,B-Ringverknüpfung	OH	OAc	Sonstige Substituenten	Seitenkette bzw. Gruppier. an C-17	Zimmermann-Test	DNPH-Test	TTC-Test
XXVI	12	—	<i>cis</i>	—	3 $\alpha$ ,7 $\alpha$	—		—	—	—
XXVII	12	9	<i>cis</i>	—	—	3 $\alpha$ -Cath		—	—	—
XXVIII	12	9	<i>cis</i>	—	3 $\alpha$ ,7 $\alpha$	—		—	—	—
XXIX	6	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XXX	6	—	<i>trans</i>	3 $\beta$	—	—		—	—	+
XXXI	6	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	5 $\alpha$ -Br	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	—
XXXII	6	7	<i>trans</i>	3 $\beta$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XXXIII	6	7	<i>trans</i>	5 $\alpha$	3 $\beta$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	—
XXXIV	6	7	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XXXV	7	—	<i>trans</i>	—	3 $\beta$	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XXXVI	7	5	—	—	—	3 $\beta$ -CH <sub>3</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XXXVII	1	—	<i>trans</i>	17 $\beta$	—	3 $\beta$ -CH <sub>3</sub>		—	—	—
XXXVIII	2	—	<i>trans</i>	—	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	+	+	—
XXXIX	—	5	—	3 $\beta$ ,4 $\beta$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XL	—	5	—	—	—	3 $\beta$ ,4 $\beta$	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XLI	—	5	—	3 $\beta$ ,4 $\alpha$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	—
XLII	—	5	—	—	—	3 $\beta$ ,4 $\alpha$	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XLIII	—	5	—	—	—	3 $\alpha$ ,4 $\alpha$	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	+
XLIV	—	—	<i>trans</i>	2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,15 $\beta$	—	—		—	—	—
XLV	—	—	<i>trans</i>	3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$	—	—	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	—	—	—
Ecdyson								—	+	—
Ecdyson-Abbauprodukte								+	+	—

Wir haben gesättigte und  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Ketone in 3-, 6-, 7- und 12-Stellung sowie ein 1-Keton, ein 2-Keton und einige Dirole, die durch Wasserabspaltung über die Enole in Ketone übergehen könnten, untersucht. Der Einfluß von Substituenten, die in Nachbarschaft zur Ketogruppe stehen, konnte in einigen Fällen ebenfalls geklärt werden.

Gesättigte und ungesättigte 3-Ketone, in denen entweder am C-Atom 2 oder am C-Atom 4 noch zwei Protonen vorhanden sind, geben in allen Fällen die Farbreaktionen (Nr. I, II, IV—XIV, XVII—XIX). Ein Proton in Nachbarstellung zur Ketogruppe genügt nicht; auch wenn an C-2 und C-4 je ein Proton steht, tritt niemals die charakteristische violette Farbe des Zimmermann-Tests auf (XV, XVI und XX). Manchmal färben sich diese Substanzen im Test gelb. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit dem gegebenen Reaktionsmechanismus<sup>4)</sup>. Die einzige Ausnahme bildet das Cholesten-(5)-ol-(4 $\alpha$ )-on-(3)-acetat (III), das nicht mit *m*-Dinitrobenzol reagiert. Wir erklären das mit der bekannten Umlagerung der 3-Keto-4 $\alpha$ -acetoxy- $\Delta^5$ -Gruppierung<sup>6)</sup> zur stabileren 3 $\beta$ -Acetoxy-4-keto- $\Delta^5$ -Gruppierung. Die Umlagerung läuft

<sup>6)</sup> L. F. FIESER und M. FIESER, Steroide, S. 253, Verlag Chemie, Weinheim 1961.

in alkalischem Medium wahrscheinlich schneller ab als die Kondensation mit *m*-Dinitrobenzol. Das entstehende 4-Keton erfüllt die Bedingungen der Zimmermann-Reaktion nicht.

Gesättigte 12-Ketone der 5 $\beta$ -Reihe sind im Zimmermann-Test negativ<sup>5)</sup>. Wir haben auch für die 12-Ketone der 5 $\alpha$ -Reihe und  $\Delta^9(11)$ -12-Ketone mit *cis*- und *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B festgestellt, daß sie nicht mit *m*-Dinitrobenzol reagieren (XXI, XXIII–XXVIII). Ist zusätzlich eine 20-Keto-Gruppe im Molekül, fällt der Test natürlich positiv aus (XXII).

6-Ketone mit *cis*- und *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B<sup>5)</sup> sowie  $\Delta^7$ -6-Ketone reagieren nicht im Zimmermann-Test (XXIX–XXXIV). Ist zusätzlich eine 3-Keto-Gruppe im Molekül, fällt der Farbttest natürlich positiv aus (XVII).

Gesättigte 7-Ketone mit *trans*-Verknüpfung der Ringe sowie  $\Delta^5$ -7-Ketone waren, wie zu vermuten, ebenfalls negativ im Farbttest (XXXV und XXXVI). Für die *cis*-Reihe hatte KAZIRO dasselbe festgestellt.

Wir haben auch je ein Beispiel für 1-Ketone und 2-Ketone geprüft und eine positive Zimmermann-Reaktion nur beim 2-Keton erhalten (XXXVII und XXXVIII).

Alle getesteten Steroide mit Glykol-Gruppen, auch partiell acetylierte, gaben keine Zimmermann-Reaktion; unter den angewendeten Bedingungen wird offenbar weder Wasser noch Essigsäure abgespalten (XXXIX–XLV).

## 2. DIE REAKTION MIT 2,4-DINITRO-PHENYLHYDRAZIN

R. NEHER<sup>7)</sup> berichtete über die unterschiedliche Reaktionsfähigkeit verschiedener Ketone in 3-, 17- und 20-Stellung. L. M. REINEKE<sup>8)</sup> stellte fest, daß 11-Ketone keine 2,4-Dinitro-phenylhydrazone bilden. Wir haben darüber hinaus die uns interessierenden 3-, 6-, 7- und 12-Ketone getestet. Ebenso wurden das 1-Keton, das 2-Keton sowie die Dirole untersucht. Außer den gesättigten und ungesättigten 3-Ketonen geben auch 6-Ketone,  $\Delta^7$ -6-Ketone, sowie 7-Ketone und  $\Delta^5(6)$ -7-Ketone gelbe bis orangefarbene Flecken mit dem Reagenz (I–XX, XXIX–XXX, XXXII–XXXVI).

Als einzige Ausnahme konnten wir feststellen, daß ein zur 6-Keto-Gruppe  $\alpha$ -ständiges Brom-Atom (XXXI) die Bildung eines Hydrazons verhindert. Da die Reaktion wohl im wesentlichen durch die sterische Anordnung der Keto-Gruppe bestimmt wird, ist die Wirkung des Brom-Atoms verständlich.

Aus sterischen Gründen reagieren auch 12-Ketone und  $\Delta^9(11)$ -12-Ketone nicht mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin (XXI, XXIII–XXVIII), es sei denn, es ist zusätzlich ein 20-Keton vorhanden (XXII).

Das von uns geprüfte 1-Keton bildet kein Hydrazon, das 2-Keton reagiert positiv (XXXVII und XXXVIII).

Im Dinitrophenylhydrazin-Test können Glykol-Gruppen das Vorhandensein einer Keto-Gruppe vortäuschen. Wir erhielten bei Diolen mit einer benachbarten Doppelbindung eine positive Reaktion (XXXIX–XLIII).

<sup>7)</sup> R. NEHER, Steroid Chromatography, S. 127, Elsevier Publ. Corp., Amsterdam-London-New York 1964.

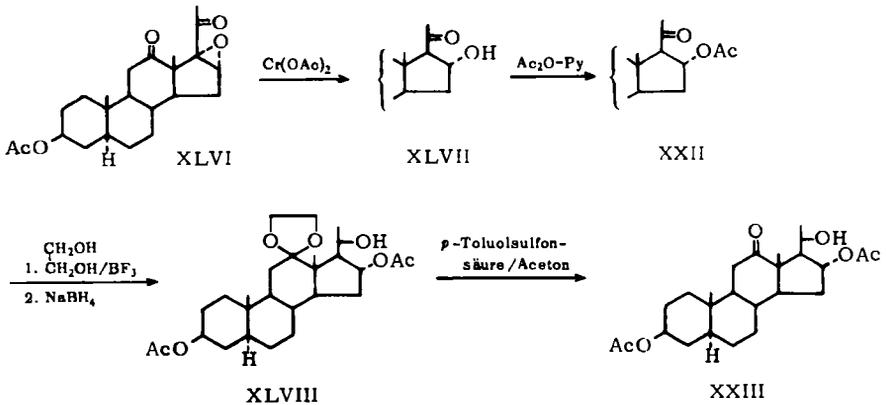
<sup>8)</sup> Analytic. Chem. 28, 1853 [1956].

## 3. DIE REAKTION MIT TRIPHENYLTETRAZOLIUMCHLORID

Mit Triphenyltetrazoliumchlorid erfaßt man allgemein die verschiedenen reduzierenden Gruppierungen im Molekül<sup>9)</sup>. Alle untersuchten Verbindungen vom Typus  $-\text{CO}-\text{CH}(\text{OH})-$  reagierten positiv mit TTC. Interessant ist, daß auch vinyloge Ketonreagieren (XI–XIII). Die Reaktion bleibt aus, wenn die Hydroxy-Gruppe des Ketons an einem tertiären Kohlenstoffatom steht (XXXIII) – wahrscheinlich deshalb, weil dann die Bildung eines En-diols nicht möglich ist.

## 4. DARSTELLUNG DER VERGLEICHSSUBSTANZEN XXII UND XXIII

Die in der Tabelle angeführten Substanzen XXII und XXIII wurden von uns als Ausgangsstoffe für weitere Synthesen verwendet. Ihre Darstellung sei hier kurz beschrieben. 5 $\alpha$ -Pregnan-diol-(3 $\beta$ ,16 $\alpha$ )-dion-(12,20)-diacetat (XXII) wurde, ausgehend von 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -Epoxy-5 $\alpha$ -pregnan-ol-(3 $\beta$ )-dion-(12,20)-acetat (XLVI)<sup>10)</sup>, synthetisiert. Dabei wurde der Epoxydring reduktiv mit Chrom(II)-acetat analog einer Arbeit von V. SCHWARZ<sup>11)</sup> geöffnet und XLVII anschließend acetyliert. Durch selektive Acetalisierung der 12-Oxo-Gruppe<sup>12)</sup> und anschließende Reduktion der 20-Oxo-Gruppe erhielten wir XLVIII.



Umketalisierung mit *p*-Toluolsulfonsäure in Aceton führte zum 5 $\alpha$ -Pregnan-triol-(3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha_F$ )-on-(12)-3,16-diacetat (XXIII).

## 5. AUSSAGEN ÜBER DIE LAGE DES KETONS IM ECDYSON

Ecdyson reagiert nicht mit *m*-Dinitrobenzol. Das schließt ein in 2-Stellung unsubstituiertes  $\Delta^4$ -3-Keton aus. Enthielte Ecdyson in 2-Stellung eine Hydroxyl-Gruppe und ein  $\Delta^4$ -3-Keton-System, so müßte die TTC-Reaktion positiv ausfallen. Wir konnten beim Ecdyson aber keine reduzierende Wirkung feststellen.

Die Tatsache, daß Ecdyson mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin sehr langsam und erst nach Erwärmen reagiert, weist ebenfalls darauf hin, daß kein  $\Delta^4$ -3-Keton vorliegt. Die

<sup>9)</sup> I. c. 7), S. 122.

<sup>10)</sup> E. RÖTHMANN und M. WALL, J. Amer. chem. Soc. **77**, 2229 [1955].

<sup>11)</sup> Collect. czechoslov. chem. Commun. **26**, 1207 [1961].

<sup>12)</sup> CH. R. ENGEL und S. RAKHIT, Canad. J. Chem. **40**, 2135 [1962].

gleiche schwache und langsame Reaktion zeigten die von uns untersuchten 6- und 7-Ketone. Eine stark verlangsamte, dann aber intensive Reaktion gaben einige Diole (XXXIX–XLIII). Ein  $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton konnten wir auf diesem Wege also nicht ausschließen, weil das Ecdyson-Molekül eine oder zwei Glykol-Gruppierungen enthält<sup>2,3)</sup>. Dieses Keton kann aber aus spektroskopischen Gründen nicht vorliegen<sup>1)</sup>.

In Frage kommen für das Ecdyson jetzt nur noch ein  $\Delta^7$ -6-Keton oder ein  $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton.

Sehr aufschlußreich waren die Farbttests, die wir mit den Wasserabspaltungsprodukten des Ecdysons durchführten. Bei der Pyrolyse des Moleküls entstanden Produkte, aus denen mehrere Moleküle Wasser abgespalten waren. Einige dieser Substanzen reagierten im Gegensatz zum Ecdyson mit *m*-Dinitrobenzol. Da die IR-Spektren in diesen Fällen gesättigte Ketone anzeigen, muß durch die Wasserabspaltung zusätzlich zum 6- oder 7-Keton eine weitere Keto-Gruppe entstanden sein, die mit *m*-Dinitrobenzol reagieren kann. Darüber wird in der folgenden Mitteilung<sup>13)</sup> berichtet.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Zur Ausführung der *Farbreaktionen* wurden 20  $\mu$ g Substanz in Methylenchlorid, oder, wenn die Verbindung darin nicht löslich war, in Methanol mit einer Mikropipette auf eine Dünnschichtplatte aufgetragen, die mit Kieselgel HF<sub>254</sub> „Merck“ beschichtet war. Das Reagenz wurde dann darauf gesprüht und die Platte 7 Min. im Trockenschrank auf 100° erwärmt.

Das *Zimmermann-Reagenz* wurde nach Angaben von NEHER<sup>14)</sup> aus zwei Lösungen hergestellt: a) 3 g *m*-Dinitrobenzol in 190 ccm Methanol und 10 ccm Propylenglykol, b) 25 g KOH in 200 ccm Methanol und 50 ccm Wasser. Kurz vor dem Besprühen wurden gleiche Teile beider Lösungen zusammengegeben.

Für den *Hydrazon-Test* bereiteten wir eine gesätt. Lösung von 2.4-Dinitro-phenylhydrazin in 250 ccm Methanol und 250 ccm konz. wäßr. Salzsäure.

Beim *Test auf reduzierende Gruppen* wurden 2 Teile einer Lösung von 1 g Triphenyltetrazoliumchlorid in 500 ccm Wasser kurz vor dem Besprühen mit einem Teil 10-proz. wäßr. Natronlauge gemischt<sup>9)</sup>.

*5 $\alpha$ -Pregnan-diol-(3 $\beta$ .16 $\alpha$ )-dion-(12.20)-3-acetat (XLVII)*: Ein 300-ccm-Tropftrichter wurde über Glaswatte als Filter bis zur Hälfte mit Zinkgriß (p. a., arsenfrei, grobgekörnt, Firma Riedel) gefüllt. Das Zink war mit einer 0.1 *m* Lösung von Quecksilber(II)-chlorid in 1 *n* HCl 20 Min. amalgamiert, sodann mehrfach mit Wasser und zum Schluß mit 1 *n* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gewaschen worden. Durch das Zink wurde eine Lösung von 112 g CrCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O in 150 ccm Wasser in eine unter Stickstoff gerührte Lösung von 310 g *Na-Acetat-Trihydrat* in 410 ccm frisch ausgekochtem Wasser getropft. Wir regulierten die Tropfgeschwindigkeit so, daß eine blaue Lösung von Chrom(II)-chlorid eintropfte. Es bildete sich ein roter Niederschlag von Chrom(II)-acetat. Am Ende der Reaktion wurde die Flüssigkeit über dem sich absetzenden Niederschlag abgehebert und noch zweimal mit ausgekochtem Wasser nachgewaschen, ohne viel Luft in den Kolben gelangen zu lassen. Zu dieser dicken roten Chromacetat-Suspension wurde eine Lösung von 15 g *16 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Epoxy-5 $\alpha$ -pregnan-ol-(3 $\beta$ )-dion-(12.20)-acetat (XLVI)* in 400 ccm Eisessig gegeben und das Gemisch 16 Stdn. unter Stickstoff gerührt. Dann wurde in 2 l Wasser gegossen und 4 mal mit 1 l Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde 5 mal

<sup>13)</sup> VI. Mitteil.: P. KARLSON, H. HOFFMEISTER, H. HUMMEL, P. HOCKS und G. SPITELLER, Chem. Ber. 98, 2394 [1965].

<sup>14)</sup> l. c. 7), S. 125.

mit 700 ccm Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Abziehen des Lösungsmittels zeigte der Rückstand im Dünnschichtchromatogramm (Cyclohexan/Essigester 30:70) mit DNPH 3 Flecke, von denen der mittlere auch im UV-Licht sichtbar war. Bei der Säulenchromatographie über 750 g Kieselgel (5% Wasser) ließen sich mit Petroläther/Äther (65:35) 1.5 g einer bisher nicht untersuchten Substanz eluieren. Dann wurden mit Petroläther/Äther (60:40) 7.5 g 5 $\alpha$ -Pregnen-(16)-ol-(3 $\beta$ )-dion-(12.20)-acetat ausgewaschen, identifiziert durch Vergleich mit authent. Material. Schließlich eluierten wir mit Petroläther/Äther (60:40) 4 g XLVII. Nach mehrfacher Umkristallisation aus Methylenchlorid/Petroläther zeigte die Substanz folgende Daten: Schmp. 192–194°.  $[\alpha]_D^{20}$ : +105° ( $c = 2$ , CHCl<sub>3</sub>). IR (KBr): Hydroxyl 3430, Acetat 1740, 1225, Ketongruppen 1710/cm.

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> (390.5) Ber. O 20.49 Gef. O 20.02

5 $\alpha$ -Pregnan-diol-(3 $\beta$ .16 $\alpha$ )-dion-(12.20)-diacetat (XXII): 2.0 g XLVII wurden mit 10 ccm Pyridin und 7 ccm Acetanhydrid über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und Umkristallisation aus Methylenchlorid/Petroläther erhielten wir 2.01 g XXII vom Schmp. 169–170°.  $[\alpha]_D^{20}$ : +110° ( $c = 2$ , CHCl<sub>3</sub>). IR (KBr): Acetate 1735, 1250, Ketongruppen 1710/cm.

C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub> (432.5) Ber. O 22.19 Gef. O 21.91

5 $\alpha$ -Pregnan-triol-(3 $\beta$ .16 $\alpha$ .20 $\alpha_F$ )-on-(12)-3.16-diacetat-äthylenacetal (XLVIII): 306 mg XXII wurden in 1 ccm absol. Methylenchlorid mit 1.7 ccm frisch dest. Äthylenglykol und 0.35 ccm BF<sub>3</sub>-Äthetat 3 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Dann wurde in 20 ccm Eiswasser gegossen, mit Methylenchlorid extrahiert und die organische Lösung mit Hydrogencarbonat neutral gewaschen. Der Rückstand stand über Nacht mit 5 ccm Pyridin und 2 ccm Acetanhydrid. Die Lösung wurde in 30 ccm Methylenchlorid aufgenommen und 5 mal mit 15 ccm 5-proz. Hydrogencarbonatlösung gewaschen. Es blieben 300 mg Rückstand, die in 2 ccm Tetrahydrofuran gelöst wurden. Nach Zugabe von 6 ccm Methanol wurden unter Eiskühlung und Rühren 67 mg Natriumborhydrid innerhalb von 15 Min. zugegeben. Man rührte noch 1 Stde. unter Kühlung und 3 Stdn. bei Raumtemperatur, goß in 50 ccm Wasser und brachte mit Essigsäure auf pH 6. Der Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methylenchlorid/Petroläther umkristallisiert. Wir erhielten 140 mg im DC (Cyclohexan/Essigester 30:70) einheitliches XLVIII vom Schmp. 224–226°.  $[\alpha]_D^{20}$ : –34° ( $c = 2$ , CHCl<sub>3</sub>), IR (KBr): Hydroxyl 3400, Acetate 1740, 1250/cm.

C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>7</sub> (478.6) Ber. O 23.40 Gef. O 23.05

5 $\alpha$ -Pregnan-triol-(3 $\beta$ .16 $\alpha$ .20 $\alpha_F$ )-on-(12)-3.16-diacetat (XXIII): 1.06 g XLVIII wurden mit 120 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 45 ccm absol. Aceton 90 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wurde in 200 ccm kalte 5-proz. KHCO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und mit Methylenchlorid extrahiert. Der Rückstand der Aufarbeitung lieferte nach Umkristallisieren aus Methylenchlorid/Petroläther 800 mg im DC (Cyclohexan/Essigester 30:70) einheitliche Substanz vom Schmp. 206–208°.  $[\alpha]_D^{20}$ : –8.2° ( $c = 2$ , CHCl<sub>3</sub>). IR (KBr): Hydroxyl 3400, Acetate 1740, 1240, Keton 1705/cm.

C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub> (434.5) Ber. O 22.09 Gef. O 21.75

[503/64]