

1. Gas-Chromatographie und Massenspektrometrie der Trimethylsilyl-enoläther von 5 α - und 5 β -Cholestan-3-on

von W. Vetter, W. Walther, M. Vecchi und M. Cereghetti

Abteilung für Physik und physikalische Chemie und chemische Forschungsabteilung
der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

(19. X. 68)

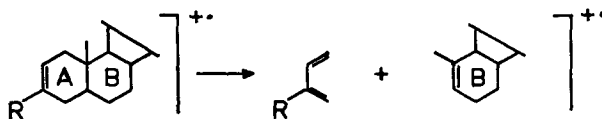
Summary. Trimethylsilyl-enolethers of 5 α - and 5 β -cholestan-3-on were investigated by gas chromatography and mass spectrometry. These derivatives are readily prepared and well suited for gas chromatographic analysis. In the mass spectrum they show fairly intense fragmentation, which appears to be characteristic for some structural elements in the surroundings of the functional group (excluding stereochemistry). This fragmentation may be useful for the structure elucidation of 3-oxo-steroids and related compounds.

For comparison purposes the corresponding enolacetates were also investigated.

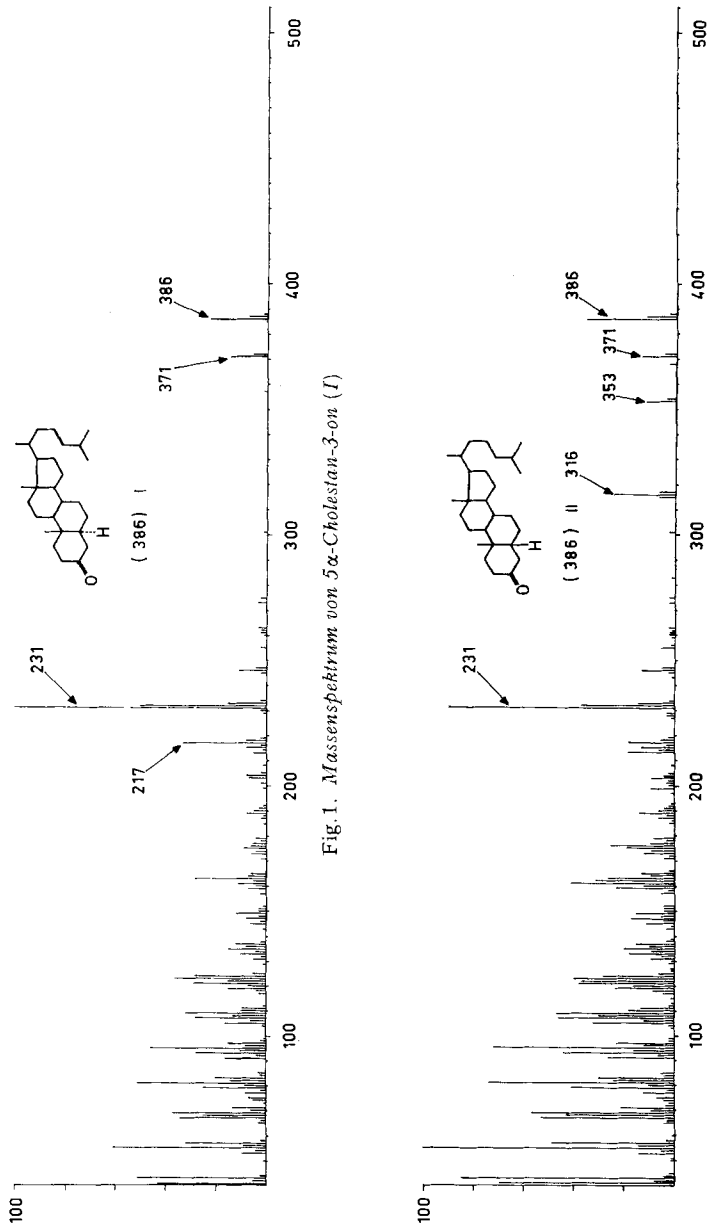
Bestimmte funktionelle Gruppen sind geeignet, in komplizierten alicyclischen Verbindungen, wie z.B. Steroiden, bevorzugte Fragmentierungsreaktionen einzuleiten [1]. Diese Reaktionen spielen sich stets in Molekelbereichen ab, die der funktionellen Gruppe benachbart sind. Sie führen zu intensiven Piken in den Massenspektren der Verbindungen und sind häufig charakteristisch für gewisse Strukturelemente der betroffenen Molekülteile. Diese Fragmentierungen können daher für die Strukturaufklärung unbekannter Verbindungen nützlich sein.

Bei Steroiden sind die Möglichkeiten zur gezielten Einführung bestimmter funktioneller Gruppen auf die Umwandlung oder den Ersatz bereits vorhandener funktioneller Gruppen beschränkt. Die fast stets vorkommende Funktionalisierung der Steroide in Stellung 3 bietet meist einen Ansatzpunkt, von dem aus Fragmentierungen in einem Teil des Steroidskeletts, nämlich Ring A und unter besonderen Voraussetzungen Ring B, ausgelöst werden können.

AUDIER *et al.* [2] benutzten verschiedene Substituenten an dieser Stelle, um eine Doppelbindung in Ring A einzuführen, und untersuchten den Einfluss dieser Doppelbindung auf die Fragmentierung von Steroiden. Sie fanden, dass eine Δ^2 -Doppelbindung häufig einen Retro-DIELS-ALDER-Zerfall von Ring A herbeiführt:

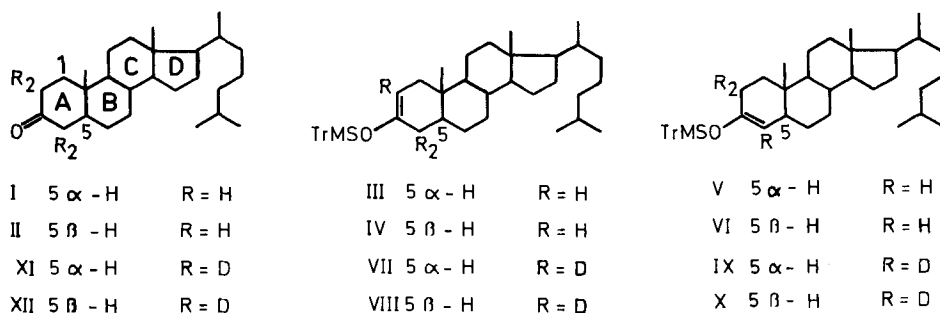


Um die Doppelbindung einzuführen, wurde im Falle von 3-Ketosteroiden vorgeschlagen, Enoläther oder Enolacetate herzustellen, mit dem Ziel, aus den erzeugten Fragmentpiken die Substitution am Ring A und, da die Enolisierungsrichtung von der A/B-Ringverknüpfung abhängt, auch die Stereochemie dieser Ringverknüpfung zu erschliessen.

Fig. 1. Massenspektrum von 5 α -Cholestan-3-on (I)Fig. 2. Massenspektrum von 5 β -Cholestan-3-on (II, Koprostanon)

Es erschien interessant, die Untersuchung auf Trimethylsilyl-enoläther (TrMS-enoläther) von 3-Ketosteroiden auszudehnen, besonders deshalb, weil diese Derivate wegen ihrer günstigen Eigenschaften in der gas-chromatographischen Analyse gut zur Darstellung im Mikromaßstab geeignet sind.

Als Modellverbindungen wurden 5 α - und 5 β -Cholestan-3-on (I bzw. II, Schema 1), gewählt. Ihre Massenspektren, unter denselben Bedingungen wie die folgenden Spektren ihrer Derivate aufgenommen, sind in Fig. 1 und 2 wiedergegeben. Die Fragmentierungen von I und II sind typisch für Steroide, die keine funktionellen Gruppen mit starker Wirkung auf den Zerfall des Kohlenstoffgerüsts besitzen [3]: Die Spektren bestehen im unteren Massenbereich aus einer grossen Anzahl von Piken mit relativ hoher Intensität, die nicht für irgendwelche Strukturelemente charakteristisch sind. Der intensivste Pik im oberen Massenbereich beider Spektren (m/e 231) entspricht einer Fragmentierung im Ring D [4]. Der Unterschied in der Stereochemie in Stellung 5 macht sich hauptsächlich durch Pike bei m/e 353 und 316 in der 5 β -Verbindung II (Fig. 2) bemerkbar, die im Spektrum des 5 α -Isomeren I (Fig. 1) fehlen. Die Ketogruppe hat keinen auffallenden Einfluss auf die Fragmentierung.



Schema 1. Die untersuchten Verbindungen

Ein starker Einfluss einer anderen in diese Steroide eingeführten funktionellen Gruppe auf die Fragmentierung müsste sich durch das Auftreten eines oder mehrerer intensiver Pike und den Intensitätsverlust aller uncharakteristischen Pike sowie besonders des Piks m/e 231 bemerkbar machen.

Trimethylsilyl-enoläther wurden zuerst von KRÜGER & ROCHOW [5] durch Umsetzung von Ketonen mit Natrium-bis-trimethylsilyl-amid erhalten. Später wurden bei der Silylierung von Hydroxylgruppen in Steroidketonen Trimethylsilyl-enoläther als Nebenprodukte beobachtet [6]¹⁾. Für analytische Zwecke ist die Darstellung der Derivate mit den für die Umsetzung von Hydroxylgruppen verwendeten Reagentien N-Trimethylsilyl-acetamid oder Hexamethyldisilazan besser geeignet als das Verfahren von ROCHOW. Da keine näheren Angaben über die Umsetzung von Ketonen mit den üblichen Silylierungsreagentien vorliegen, wurden diese Reaktionen im Mikromaßstab mittels gas-chromatographischer und massenspektrometrischer Analyse untersucht und auch präparativ durchgeführt.

¹⁾ Anmerkung bei der Korrektur: Während der Drucklegung dieser Arbeit erhielten wir Kenntnis von einer Publikation CHAMBAZ *et al.* [6a] über die Silylierung von Sterolketonen.

1. *Darstellung der Trimethylsilyl-enoläther.* Die Umsetzung der Ketone mit einem Gemisch von Hexamethyldisilazan und Trimethylchlorsilan führte unter etwas derberen Bedingungen, als für Hydroxylgruppen nötig sind [7], in guter Ausbeute zu den Trimethylsilyl-enoläthern.

a) *Silylierung von 5 α -Cholestan-3-on.* Fig. 3 zeigt den Verlauf der Silylierung unter den im experimentellen Teil angegebenen Bedingungen. Die Ausbeute erreicht annähernd 100%. Ein repräsentatives Gas-Chromatogramm eines Gemisches von 5 α -Cholestan-3-on (I) und dessen Trimethylsilyl-enoläthern III und V ist in Fig. 4 wiedergegeben.

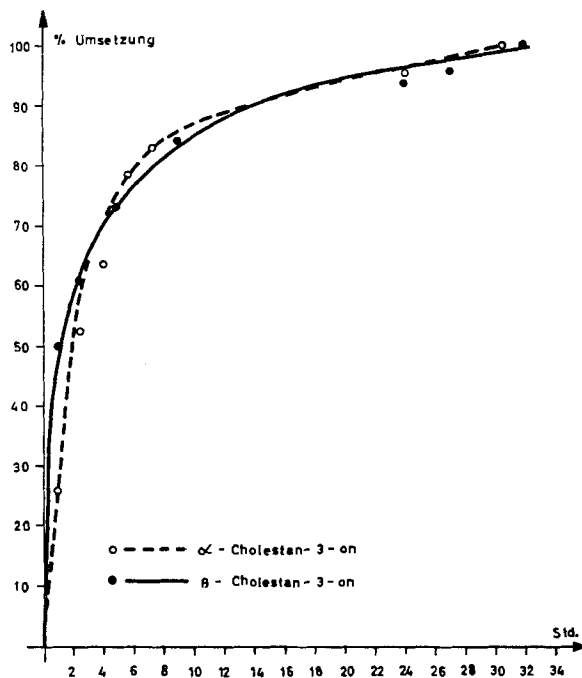


Fig. 3. Verlauf der Silylierung von 5 α -Cholestan-3-on
(nach GC.-Analyse, Pik 1: Pik 2, Fig. 4)
und 5 β -Cholestan-3-on
(nach GC.-Analyse, Pik (1 + 2): Pik 3, Fig. 5)

Die Fraktionen wurden am Ausgang des Gas-Chromatographen kondensiert und massenspektroskopisch untersucht. Wie das Gas-Chromatogramm zeigt, entsteht bei der Reaktion nur *ein* Pik. Die präparative Umsetzung von I führte in guter Ausbeute zu einem kristallinen Rohprodukt, das nach Chromatographie an Kieselgel und Umkristallisation bis zur Schmelzpunktskonstanz bei 94,5–95° schmolz. Das Massenspektrum (Fig. 6) zeigt das erwartete Molekulargewicht des Trimethylsilyl-enoläthers: 386 + 72 = 458. Auf Grund des NMR.-Spektrums liegt jedoch keine einheitliche Verbindung, sondern ein Mischkristallisat der beiden Trimethylsilyl-enoläther III und V im Verhältnis von ca. 90:10 vor. Die Strukturzuordnung erfolgte in Analo-

gie zu dem üblichen Enolisierungsverhalten von 3-Ketonen der 5α -Reihe [8]. Versuche, das Gemisch in seine Komponenten zu zerlegen oder zu reinigen, misslangen, so dass die massenspektrometrische Untersuchung nur mit dem Mischkristallisat durchgeführt werden konnte.

b) *Silylierung von 5β -Cholestan-3-on*. In Fig. 3 ist wieder der Verlauf der Silylierung dargestellt, Fig. 5 zeigt ein Gas-Chromatogramm des Gemisches.

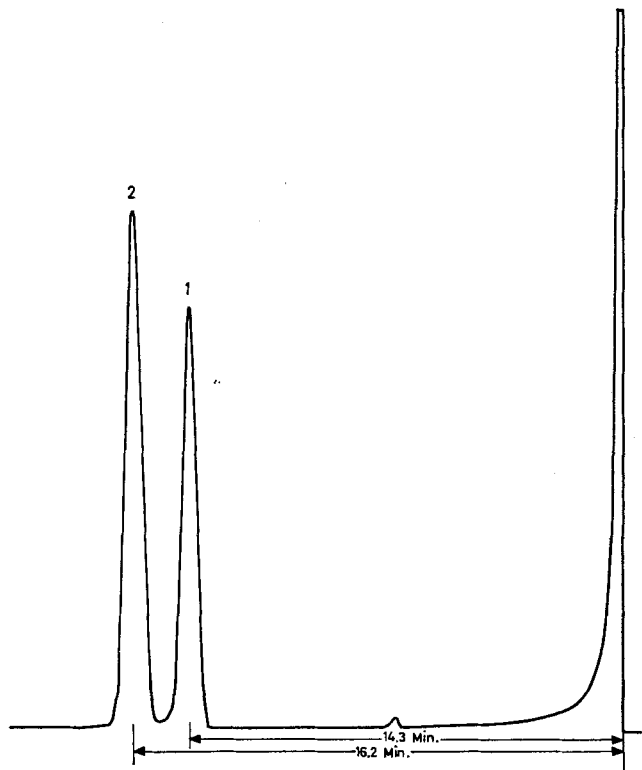


Fig. 4. Gas-Chromatogramm eines Gemisches von I (Pik 2) und von III + 10% V (Pik 1)
Gas-Chromatograph: PERKIN-ELMER 881; 5% SE 30; 2 m \times 2,2 mm; S: 265°C, B: 280°C, D:
250°C; 38 ml/Min. He

Wie aus dem Gas-Chromatogramm ersichtlich ist, entstehen aus 5β -Cholestan (II) im Mengenverhältnis von etwa 40:60 zwei Verbindungen, die nach ihren Massenspektren (Fig. 7 und Fig. 8) isomere Trimethylsilyl-enoläther sind. Wieder ist auf Grund des umfangreichen Tatsachenmaterials über die Enolisierung der Ketogruppe in 3-Oxo- 5β -Steroiden [8] die Zuteilung der beiden möglichen Formeln IV und VI eindeutig: Dem Hauptprodukt muss die Δ^3 -Formel VI, der in geringerer Menge entstandenen Verbindung die Δ^2 -Formel IV zugeschrieben werden.

Die im präparativen Maßstab durchgeführte Umsetzung von II lieferte ein nicht kristallisierendes Gemisch der beiden Trimethylsilyl-enoläther IV und VI, das sich weder durch Kristallisation noch durch Säulen- oder Dünnschichtchromatographie auftrennen liess. Durch das Kernresonanzspektrum konnte das Verhältnis der beiden

Komponenten in Übereinstimmung mit der GC.-Analyse als 40:60 bestimmt und die getroffene Zuordnung der Formeln bestätigt werden.

2. *Massenspektren der Trimethylsilyl-enoläther III, IV und VI.* Die Massenspektren der Trimethylsilyl-enoläther III (+ 10% V), IV und VI (Fig. 6, 7 und 8) sind offensichtlich einander sehr ähnlich und erlauben kaum eine Unterscheidung der Verbindungen²⁾. Im Vergleich zu den Spektren der Ketone I und II (Fig. 1 und 2) enthalten sie einige neue, intensive Pike: m/e 73, 127, 142, 143, während die relative Intensi-

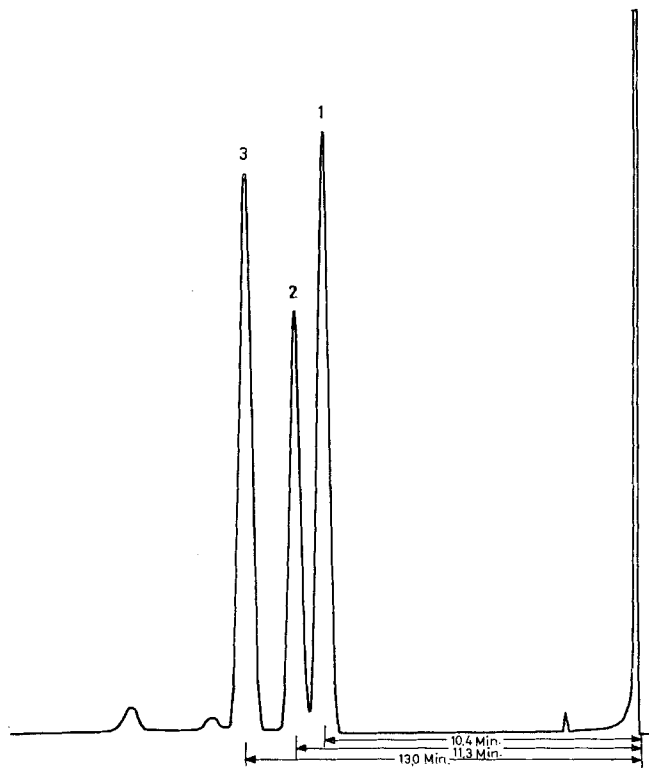


Fig. 5. Gas-Chromatogramm eines Gemisches von II (Pik 3) und dessen Trimethylsilyl-enoläthern IV (Pik 2) und VI (Pik 1)

GC-Bedingungen: siehe Fig. 4

tät der unspezifischen Pike im unteren Massenbereich stark verringert und vor allem der der Fragmentierung von Ring D entsprechende Pik (m/e $231 + 72 = 303$) ver-

²⁾ Die Massenspektren der reinen Verbindungen III und V konnten aus den erwähnten Gründen nicht aufgenommen werden. Da III im Gemisch stark überwiegt (90:10) und da ausserdem die Spektren der Isomeren IV und VI dem Spektrum des Gemisches sehr ähnlich sind, kann angenommen werden, dass das in Fig. 6 abgebildete Spektrum im wesentlichen das Fragmentierungsbild von III wiedergibt. Über die Fragmentierung von V können auf Grund der vorliegenden Daten natürlich keine Aussagen gemacht werden. Die Vermutung liegt aber nahe, dass sie sich nicht wesentlich von der der anderen Isomeren unterscheidet. Im folgenden soll daher die Diskussion auf III beschränkt und V nur als Verunreinigung von III mit geringer Auswirkung auf das Spektrum betrachtet werden.

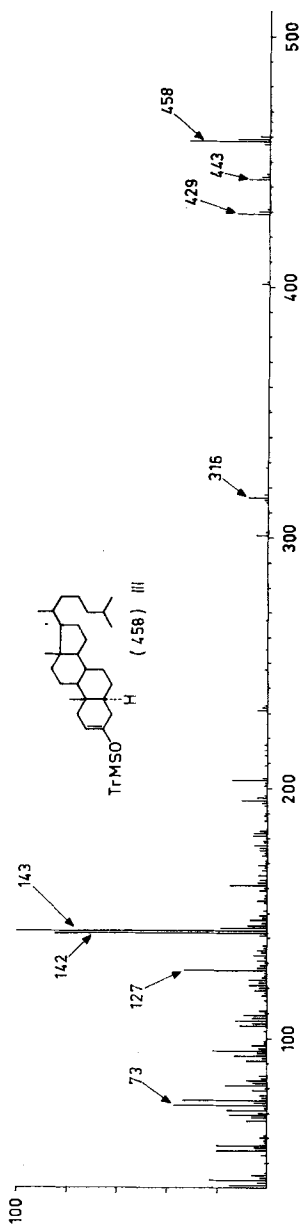


Fig. 6. Massenspektrum von III (+10% V)

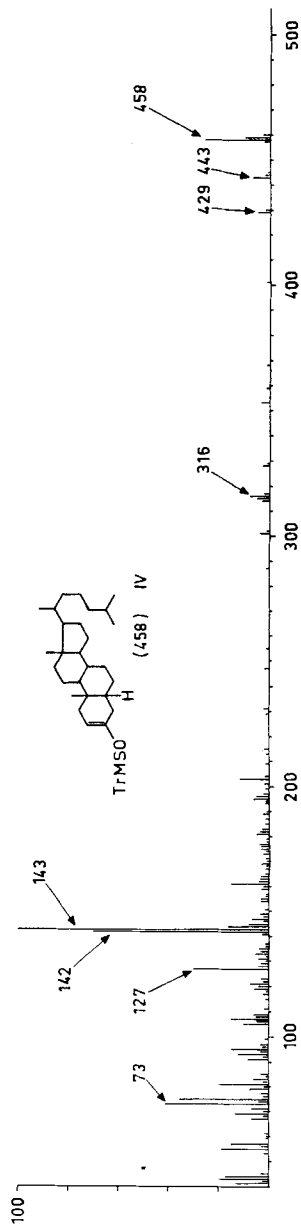


Fig. 7. Massenspektrum von IV

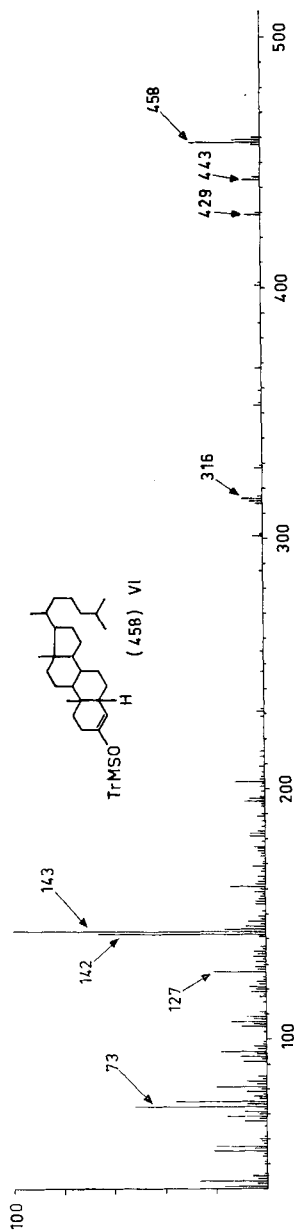


Fig. 8. Massenspektrum von VI

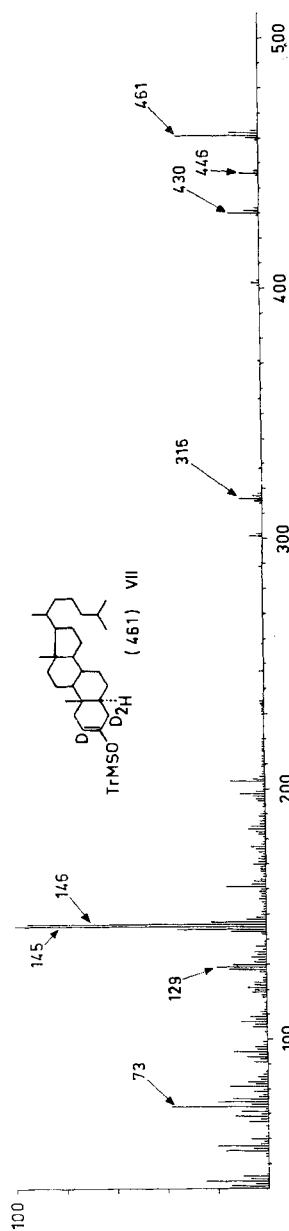


Fig. 9. Massenspektrum von VII (+10% IX)

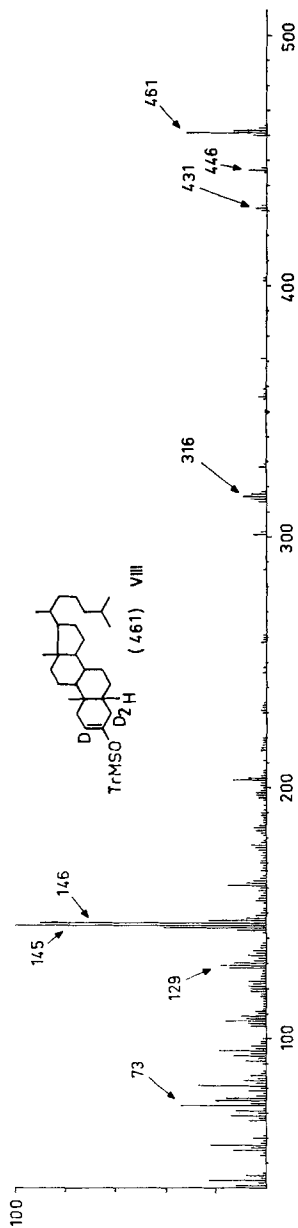


Fig. 10. Massenspektrum von VIII

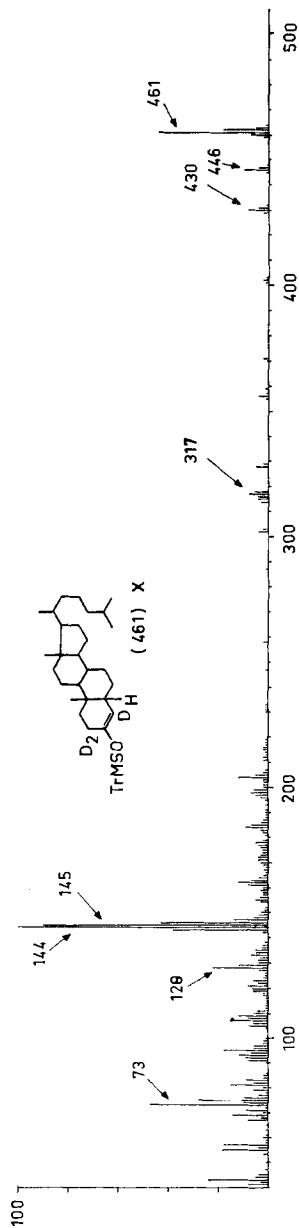
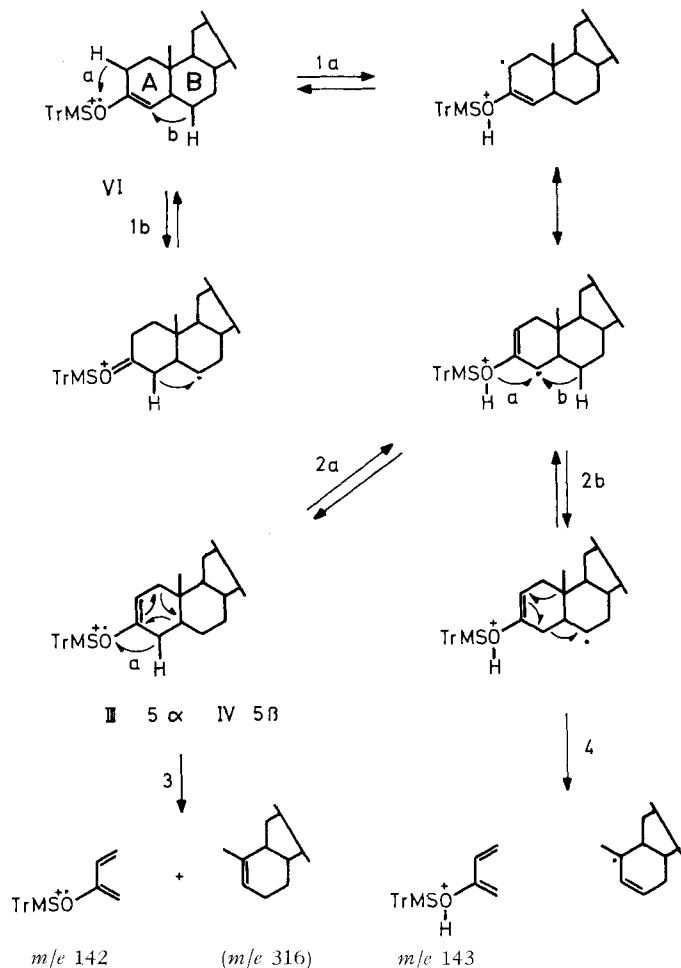


Fig. 11. Massenspektrum von X

schwunden ist. Auf Grund ihrer Massenzahlen und ihrer Verschiebungen in den Spektren der in den Stellungen 2 und 4 deuterierten Verbindungen VII-X (Fig. 9, 10, 11) können die intensiven Pike bestimmten Fragmenten zugeordnet werden. Die Pike m/e 144, 145 und 146 enthalten 2 bis 3 D-Atome. Daraus ergibt sich mit grösster Wahrscheinlichkeit der Schluss, dass diese Fragmente neben dem Trimethylsilyloxyrest die



Schema 2. Fragmentierung des Ringes A der Trimethylsilyl-enoläther von 5 α - und 5 β -Cholestan-3-on

C-Atome 1 bis 4 des Steroidgerüsts enthalten. Das Ion m/e 127 entsteht durch Verlust einer Methylgruppe aus m/e 142, wie ein metastabiler Pik bei m/e 113,9 beweist. Der Pik bei m/e 73 ist typisch für alle Trimethylsilyläther [9]: $(\text{CH}_3)_3\text{Si}^+$. Obwohl von relativ geringer Intensität, ist noch der Pik bei m/e 316 zu erwähnen. Er stellt das zu m/e 142 komplementäre Bruchstück dar, das bei Δ^2 -Steroiden ohne Substituenten am Ring A das überwiegende geladene Produkt der Retro-DIELS-ALDER-Spaltung ist [2] [10].

Die von AUDIER *et al.* [2] beschriebene Fragmentierung von Ring A konnte durch eine einfache Retro-DIELS-ALDER-Spaltung erklärt werden. Inzwischen wies jedoch SPITELLER [11] nach, dass aus Δ^1 - und Δ^3 -Steroiden teilweise dieselben Bruchstücke entstehen wie aus Δ^2 -Steroiden. Daraus geht hervor, dass auch die durch eine Δ^2 -Doppelbindung bedingte Fragmentierung wahrscheinlich nicht so unkompliziert verläuft wie ursprünglich [2] vermutet. Die vorliegenden Spektren bestätigen die Befunde SPITELLER's und lassen vermuten, dass die Fragmentierung der verschiedenen Isomeren weitgehend über identische Zwischenstufen verläuft. Überdies tritt mit dem Ion der Masse 143 ein Fragment auf, das auch rein formal nicht das Produkt einer Retro-DIELS-ALDER-Reaktion sein kann: Die Masse dieses Ions erfordert die Verschiebung eines H-Atoms aus Ring B oder Ring C an das geladene Bruchstück. In Abwesenheit von in den Ringen B und C deuterierten Verbindungen kann über die Herkunft dieses H-Atoms nichts Sicheres ausgesagt werden, so dass für das Fragment 143 kein gut gestützter Mechanismus angegeben werden kann. Immerhin erscheint es möglich, ein Reaktionsschema aufzustellen, das die Daten der Spektren (Fig. 6–11) erklären könnte (Schema 2).

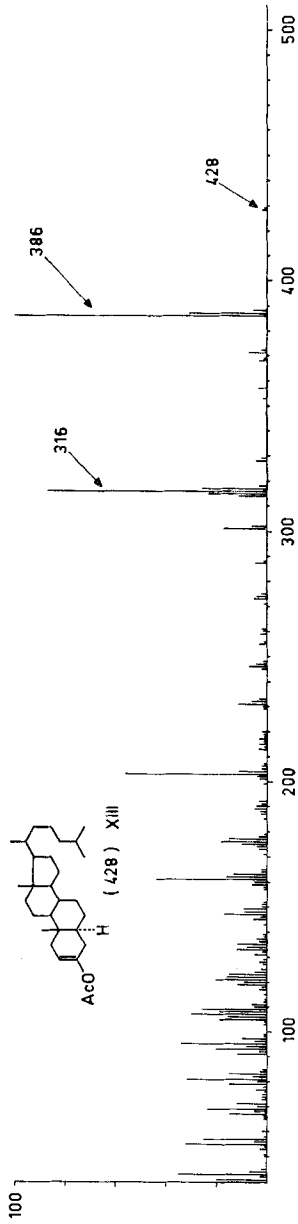
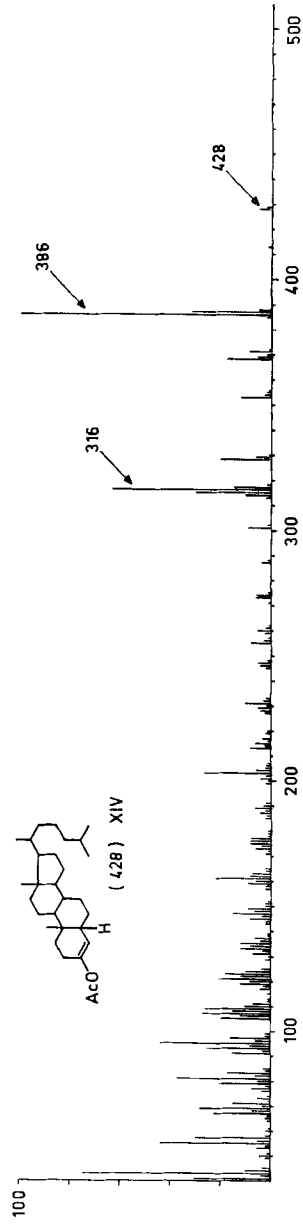
Eine rasche Isomerisierung der Doppelbindung durch H-Verschiebungen [12], möglicherweise über die protonierte Äthergruppe verlaufend, könnte der Retro-DIELS-ALDER-Reaktion [10] (Schritt 3, Schema 2) vorangehen (Schritte 1a, 2a, Schema 2). Der Abzug eines H-Atoms aus Ring B, z. B. Stellung 6 (Schritt 2b, Schema 2), könnte die Voraussetzung für einen Zerfall von Ring A, wieder in einer Art Retro-DIELS-ALDER-Reaktion (Schritt 4, Schema 2) schaffen, die zum Pik m/e 143 führt.

Die Spektren der 2 deuterierten Δ^2 -Verbindungen VII (+ 10% IX) und VIII (Fig. 9 und 10) sind sehr ähnlich und weisen eine beträchtlich geringere Isotopenverschmierung auf als das Spektrum der Δ^3 -Verbindung X (Fig. 11). Ein H-Austausch zwischen den Stellungen 4 und z. B. 6 (Schritt 1b, Schema 2), der nur in der Δ^3 -Verbindung VI ohne vorhergehende Isomerisierung eintreten kann, könnte die Ursache für diesen Unterschied in der Isotopenverteilung sein.

Die Verschiebung des Piks m/e 127 (m/e 142 minus 15) hauptsächlich auf m/e 128 und 129 in den Spektren der deuterierten Verbindungen VII–X deutet auf sehr starke Umlagerungen innerhalb des Ions m/e 142 hin, die jedoch nicht näher untersucht wurden. Schliesslich ist das Ion m/e 429 (Fig. 6, 7, 8) noch bemerkenswert. Es entsteht durch Verlust einer Äthylgruppe aus Ring A, wie aus den Spektren der deuterierten Verbindungen hervorgeht (Fig. 9, 10, 11). Der Mechanismus der Entstehung dieses Ions ist nicht geklärt.

Trotz der Unsicherheit des Mechanismus der Fragmentierung ist es wahrscheinlich, dass Trimethylsilyl-enoläther als Derivate von 3-Ketosteroiden zur Aufklärung der Struktur im Bereich des Ringes A nützlich sein können. Allerdings schliesst die Ähnlichkeit der Spektren der drei Verbindungen III, IV und VI sichere Schlüsse auf die Stereochemie in Stellung 5 aus. (Aus den Spektren der deuterierten Derivate könnten solche Schlüsse jedoch vielleicht gezogen werden.)

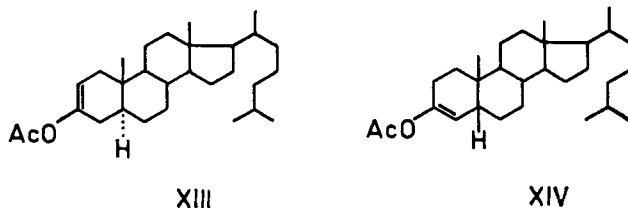
In welchem Ausmass zusätzliche Substituenten in den Ringen A und B die Fragmentierung dieser Derivate verändern, muss noch geprüft werden und ebenso die Frage, inwieweit Substituenten in weiter entfernten Molekelteilen, z. B. Ring D, imstande sind, die Fragmentierung im Ring A zu unterdrücken [1]. Die Grenzen der

Fig. 12. Massenspektrum von 3-Acetoxy- Δ^2 -5 α -Cholestan (XIII)Fig. 13. Massenspektrum von 3-Acetoxy- Δ^3 -5 β -Cholestan (XIV)

analytischen Brauchbarkeit dieser Derivate können erst nach Untersuchung dieser Probleme angegeben werden.

Da die Verwendung der Enolacetate von 3-Ketosteroiden auf Grund von Analogien zu anderen Verbindungen zur Fragmentierungslenkung im Ring A zwar empfohlen, aber nicht tatsächlich untersucht wurde [2], erschien es interessant, im Vergleich zu den obigen Befunden auch die Spektren dieser Derivate aufzunehmen.

Die Enolacetate (XIII u. XIV) wurden nach dem Verfahren von EDWARDS [13] ohne Schwierigkeiten im Mikromassstab hergestellt und gas-chromatographisch isoliert. Aus 5α -Cholestan-3-on entstand nur *ein* Produkt [13], während bei der Umsetzung von 5β -Cholestan-3-on im Gas-Chromatogramm neben XIV in geringer Menge ($\sim 5\%$) ein Nebenprodukt festgestellt werden konnte. Es handelt sich wahrscheinlich bei diesem Nebenprodukt um das Δ^2 -Isomere von XIV, das nicht näher untersucht wurde.



Die Massenspektren von XIII u. XIV (s. Fig. 12 und 13) zeigen, dass entgegen den Vermutungen [2] in *beiden* Verbindungen eine starke Fragmentierung des Ringes A formal in einer Retro-DIELS-ALDER-Reaktion eintritt (m/e 316). Die beiden Spektren sind einander so ähnlich, dass eine sichere Unterscheidung derartiger Isomeren auch auf diese Weise schwierig ist. Der Mechanismus dieser Reaktion wurde nicht näher untersucht.

Experimentelles. – 1. *Darstellung der Trimethylsilyl-enoläther von 5α - und 5β -Cholestan-3-on im Mikromaßstab.* 50 mg Cholestan-3-on wurden in 5 ml Pyridin gelöst und mit 0,4 ml Hexamethyldisilazan und 0,2 ml Trimethylchlorsilan unter Rückfluss erhitzt. Nach 10 Std. wurde nochmals dieselbe Menge an Reagentien zugesetzt. Die gas-chromatographische Analyse des Reaktionsgemisches erfolgte durch Einspritzung aliquoter Teile in den Chromatographen (Ergebnisse s. Fig. 3).

2. *Darstellung der deuterierten Trimethylsilyl-enoläther VII bis X via 5α - bzw. 5β -2,2,4,4-Tetra-deuterocholestan-3-on XI bzw. XII im Mikromaßstab.* 50 mg Cholestan-3-on wurden in einer Mischung von 1 ml D_2O und 2 ml Dioxan, die mit einigen Tropfen Acetylchlorid angesäuert worden war, 20 Std. auf 100° erhitzt. Das Gemisch wurde eingedampft, der Rückstand in 5 ml Pyridin gelöst und mit 0,5 ml N,N-Bis-trimethylsilyl-acetamid und 0,5 ml Trimethylchlorsilan etwa 30 Std. auf 110° erhitzt. Die gas-chromatographische Analyse (Bedingungen s. Legende von Fig. 4) des Reaktionsgemisches zeigte einen annähernd quantitativen Umsatz des eingesetzten Ketons. Der Deuterierungsgrad der Produkte VII bis X (Schema 1) war $>95\%$.

3. *Präparative Darstellung der Trimethylsilyl-enoläther.* – 3-Trimethylsilyloxy- 5α -cholest-2-en: Eine Lösung von 2,50 g Cholestan-3-on in einem Gemisch aus 20 ml Hexamethyldisilazan, 5 ml Trimethylchlorsilan und 40 ml Pyridin wurde unter Stickstoff 120 Std. bei 80° belassen. Hierauf entfernte man die flüchtigen Anteile im Wasserstrahlvakuum (Rotationsverdampfer) und dampfte den Rückstand mit Toluol mehrmals zur Trockene ein: 4,1 g. Dieses kristalline Rohprodukt, in Cyclohexan gelöst, wurde durch die 20-fache Menge Kieselgel filtriert, wobei mit Cyclohexan-Äther (96:4) 2,353 g dünn-schichtchromatographisch reiner Enolsilyläther eluiert und in späteren Fraktionen (Cyclohexan-Äther 9:1) 594 mg unverändertes Ausgangsmaterial abgetrennt werden konnten. Zur Analyse wurde eine Probe dreimal aus Äther-Petroläther umkristallisiert und 17 Std.

bei 50°/0,1 Torr getrocknet. Smp. 94,5–95°; $[\alpha]_{589}^{25} = +60^\circ$ ($c = 0,1006$; Dioxan). IR.-Spektrum (KBr): Banden bei 1674, 1253, 845, 756 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (CDCl_3): Olefinische Protonen: 4,75 ppm, nicht aufgelöstes Multiplett (Halbwertsbreite 9 Hz) ~ 1 H, H-C(2) von III; 4,45 ppm, nicht aufgelöstes Multiplett (Halbwertsbreite 3–4 Hz) $\sim 0,1$ H, H-C(4) von V.

$\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{OSi}$ (458,83) Ber. C 78,53 H 11,86% Gef. C 78,66 H 11,72%

3-Trimethylsilyloxy-5 β -cholesten: 1,90 g Koprostanon wurden wie oben in einem Gemisch aus 40 ml Hexamethyldisilazan, 20 ml Trimethylchlorosilan und 40 ml Pyridin 80 Std. auf 110° erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung und Chromatographie an der 20-fachen Menge Kieselgel resultierte ein Gemisch (2,143 g) der beiden Δ^2 - bzw. Δ^3 -Trimethylsilyl-enoläther im Verhältnis von etwa 40:60, das sich nicht weiter auftrennen liess. Das dünnschichtchromatographisch reine ölige Produkt wurde zur Analyse bei 145–150°/0,001 Torr destilliert. $[\alpha]_{589}^{25} = +48^\circ$ ($c = 0,1091$; Dioxan). IR.-Spektrum (KBr): Banden bei 1671, 1252, 847, 757 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (CDCl_3): Olefinische Protonen: 4,55 ppm, Singulett (Halbwertsbreite 3–4 Hz) $\sim 0,6$ H, H-C(4) von IV; 4,70 ppm, breites Multiplett $\sim 0,4$ H, H-C(2) von VI.

$\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{OSi}$ (458,83) Ber. C 78,53 H 11,86% Gef. C 78,52 H 11,70%

Die Massenspektren wurden mit einem MS-9 der Firma AEI, Manchester, aufgenommen, die Proben direkt in die Ionenquelle eingeführt. Die Temperatur der Ionisationskammer betrug etwa 250°C, die Ionisationsspannung 70 eV. Die Elementaranalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Dr. A. DIRSCHERL) ausgeführt.

Den Herren W. GRUNAUER, W. MEISTER, P. MEYER und P. ZWEIDLER danken wir für ihre Mitarbeit.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] a) L. DOLEJS, V. HANUS, V. CERNÝ, F. ŠORM, Coll. czech. chem. Comm. 28, 1584 (1963); W. VETTER, P. LONGEVIALLE, F. KHUONG-HUN-LAINE, Q. KHUONG-HUN & R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. France 1963, 1324; H. AUDIER, A. DIARA, M. DURAZO, M. FÉTIZON, P. FOY & W. VETTER, *ibid.* 1963, 2827; G. V. MUTZENBECHER, Z. PELAH, D. H. WILLIAMS, H. BUDZIKIEWICZ & C. DJERASSI, Steroids 1963, 475.
- [2] H. AUDIER, M. FÉTIZON & W. VETTER, Bull. Soc. chim. France 1963, 1971.
- [3] H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI & D. H. WILLIAMS, «Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry», Vol. 2, Chapter 20, p. 64, Holden Day Inc., San Francisco 1964.
- [4] Siehe [3], Seite 94.
- [5] C. K. KRÜGER & E. G. ROCHOW, J. organometal. Chemistry 1, 476 (1964).
- [6] T. A. MIETTINEN, E. H. AHRENS JR. & S. M. GRUNDY, J. Lipid Res. 6, 411 (1965); J. F. KLEBE, H. FINKBEINER & D. M. WHITE, J. Amer. chem. Soc. 88, 3390 (1966).
- [6a] E. M. CHAMBAZ, G. MAUME, B. MAUME & E. C. HORNING, Analytical Letters 1 (12), 749 (1968).
- [7] G. G. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAHITA & W. W. WELLS, J. Amer. chem. Soc. 85, 2497 (1963).
- [8] L. F. FIESER & M. FIESER, «Steroids», p. 310, Reinhold Publ. Corp., New York 1959; C. DJERASSI, «Steroid Reactions», pp. 40, 45, 50, Holden-Day, Inc., San Francisco 1963.
- [9] A. G. SHARKEY, R. A. FRIEDEL & S. H. LANGER, Analyt. Chemistry 29, 770 (1957); J. B. THOMSON & J. DIEKMANN, C. DJERASSI, J. org. Chemistry 32, 3904 (1967).
- [10] H. BUDZIKIEWICZ, J. I. BRAUMAN & C. DJERASSI, Tetrahedron 21, 1855 (1965).
- [11] G. SPITTELLER, Universität Göttingen; private Mitteilung.
- [12] D. S. WEINBERG & C. DJERASSI, J. org. Chemistry 31, 115 (1966); T. H. KINSTLE & R. E. STARK, *ibid.* 32, 1318 (1967).
- [13] B. E. EDWARDS & P. NARASIMA RAO, J. org. Chemistry 31, 324 (1966).