

SYNTHÈSE D'HYDROXY-3 ANDROSTÈNE-5 ONE-17 (DHA) TRITIÉE A
HAUTE ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE.

L. PICHAT^{*}, A.M. MOUSTIER, J.P. LELLOUCHE, J.P. BEAUCOURT^{**}

^{*} Directeur de Recherche -CEN-SACLAY-
(bâtiment 20)

91191 GIF-SUR-YVETTE CEDEX

^{**} Service des Molécules Marquées -CEN-SACLAY-
(bâtiment 47)

91191 GIF-SUR-YVETTE CEDEX

=====

SUMMARY

Tritiated DHA with a high specific activity is necessary for radioimmunoassays. We synthesized DHA label with tritium in three positions (Specific Activity : 90 Ci/mM). After protection of the 17-carbonyl group of the $\Delta^{1,4}$ androstadiene-3,17 dione, monobromide 3 was obtained. Dehydrobromination and selective reduction with NaBH₄ led to the precursor 5 which was reduced by tritium. After deprotection DHA-[1,2,15-³H] was obtained purified by liquid chromatography and characterized by TLC, ³H-NMR, MS and HPLC. Data concerning U.V. spectra NMR and Optical Rotatory Power are given for the main products and for side-reactions compounds.

=====

KEY WORDS

3-Hydroxy-5-androstene-17-one-[1,2,15-³H], dehydroandrostérone-³H,
Catalytic reduction, tritium, ³H-NMR.

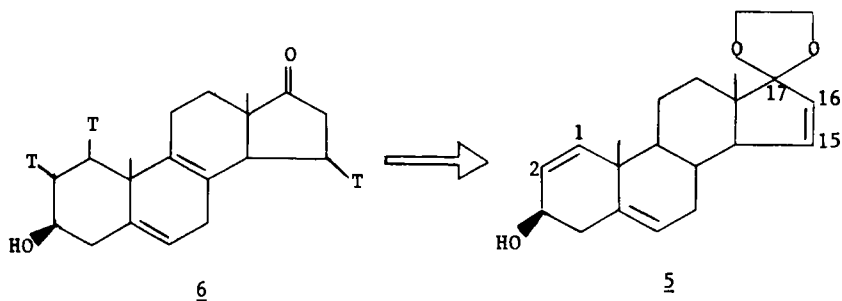
INTRODUCTION

L'androstène-5 ol-3 β one-17 (déhydroépiandrostérone, DHA), stéroïde d'origine surrénalienne est un précurseur de la biosynthèse des androgènes et des oestrogènes (1). Son dosage dans le sang (\approx 1 mg/l plasma) revêt une importance particulière.

La mise au point de dosages radioimmunologiques par compétition de liaisons ainsi que d'autres études biochimiques nécessitent la préparation de DHA tritiée à forte radioactivité spécifique. Le tritium doit être introduit dans des positions non labiles,

La synthèse de la DHA- $[^3\text{H}-15]$ a été décrite par L. PICHAT et al. (2) avec une radioactivité spécifique relativement faible, de 19 Ci/mM. ce qui nous a amenés à mettre au point l'obtention de DHA- $[^3\text{H}_3-1,2,15]$ à radioactivité spécifique : voisine de 90 Ci/mM.

Par rétrosynthèse de la DHA il nous est apparu que le composé 5 serait un bon précurseur de la DHA $[^3\text{H}_3-1,2,15]$.



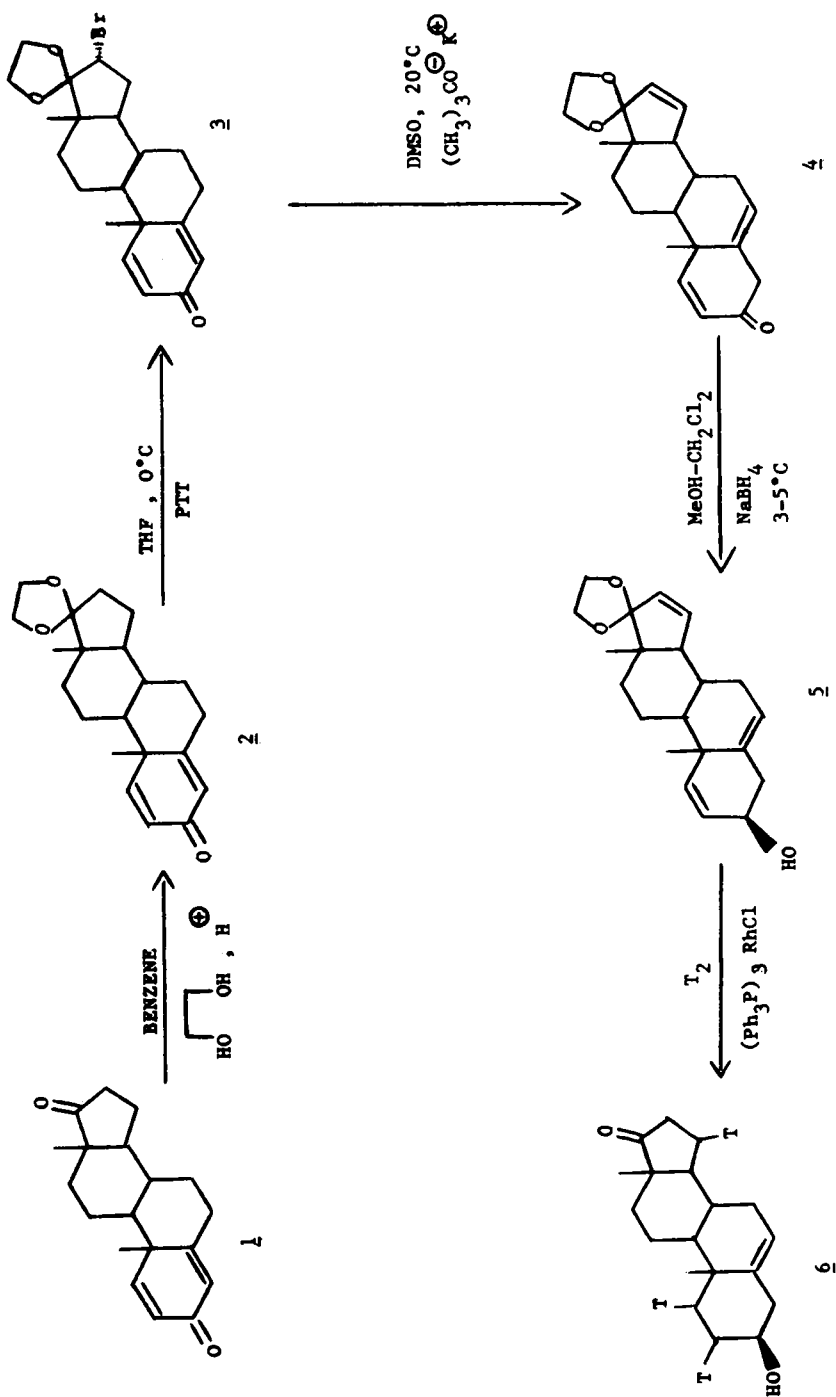
En effet, dans 5 la saturation des doubles liaisons Δ^1 et Δ^{15} par le tritium, suivie d'une hydrolyse du groupe dioxolanne en 17 et d'un traitement alcalin, donne 6. La protection de la cétone en 17 du groupe évite les réactions éventuelles d'aldolisation, ou de réduction.

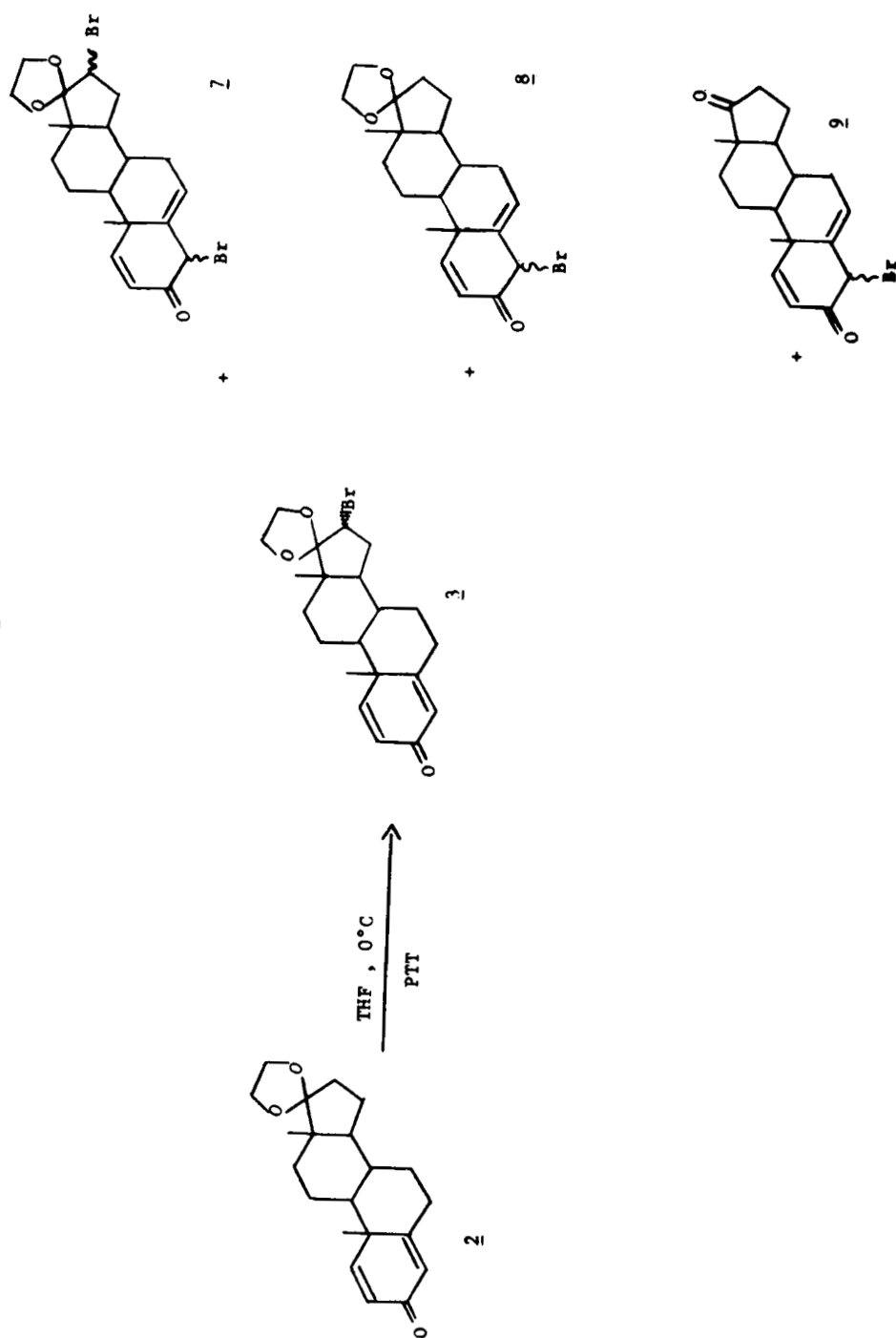
Le composé 5 a été synthétisé selon le schéma 1. L'andostradiène-1,4-dione-3,17 : 1 traité par l'éthanediol-1,2 en présence d'acide p-toluène sulfonique donne 2 quantitativement. Selon la littérature (4), 2 peut également être obtenu par transacétalation entre 1 et le méthyl-2 éthyl-2 dioxolanne-1,3.

La bromuration de 2 par le tribromure de phényltriméthylammonium (PTT) dans le THF anhydre (5) a fourni le dérivé monobromé en 16α : 3 avec un rendement de 42%. Nous avons isolé avec un rendement de 26% le dérivé dibromé 7 (schéma 2) ainsi que les dérivés mono bromés 8 et 9, sous-produits de la bromuration (5).

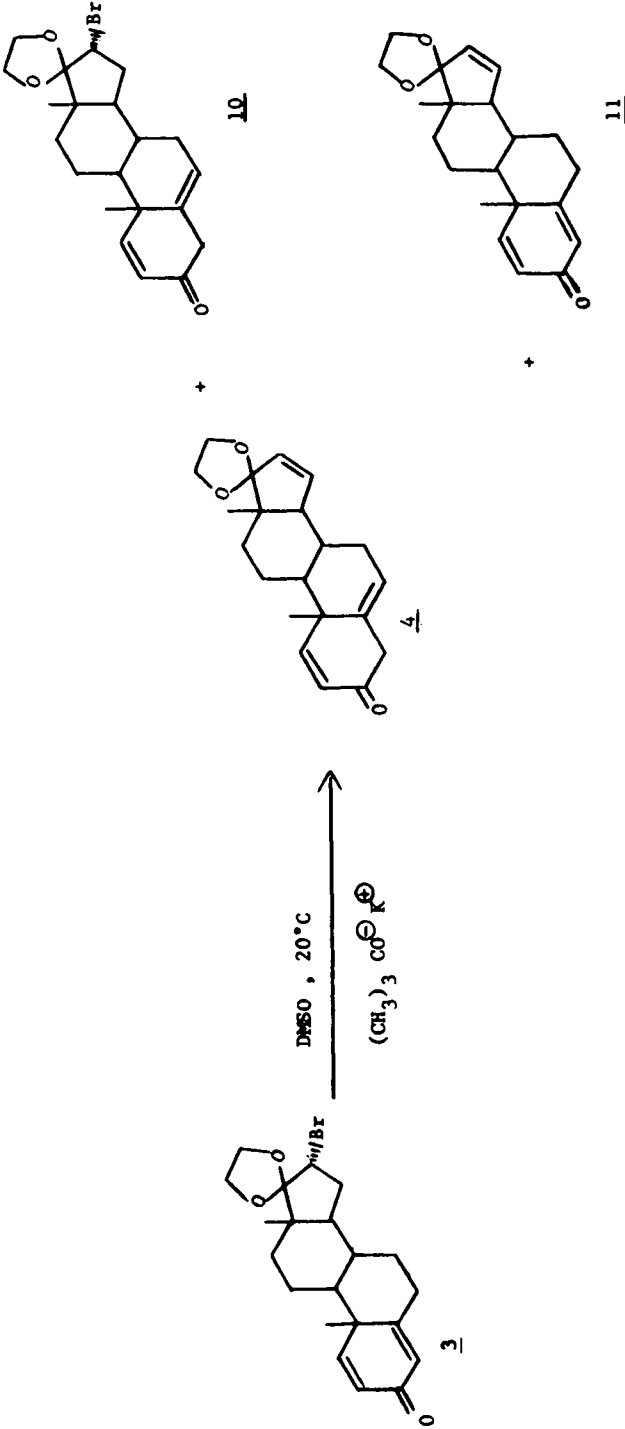
La bromuration de 2 par le PTT en α du dioxolanne est stéréospécifique (5). La RMN du proton à 400 MHz nous a permis de confirmer ce résultat.

S C H E M A 1



S C H E M A 2

S C H E M A 3



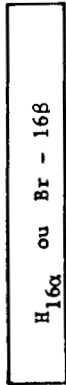
S C H E M A 4

$$J_{H_{15\alpha}-H_{16\alpha}} = 9,4 \text{ Hz}$$

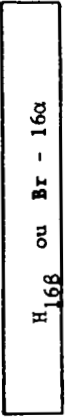
$$J_{H_{15\alpha}-H_{16\beta}} = 3,2 \text{ Hz}$$

$$J_{H_{15\beta}-H_{16\alpha}} = 5,6 \text{ Hz}$$

$$J_{H_{15\beta}-H_{16\beta}} = 11,8 \text{ Hz}$$



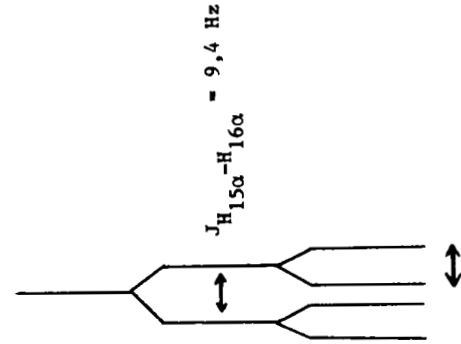
MOTIF THEORIQUE



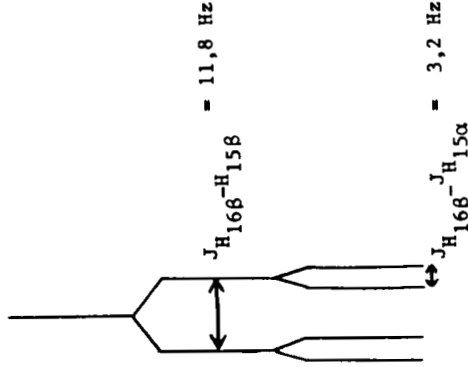
MOTIF THEORIQUE

H₁₆

MOTIF EXPERIMENTAL



$$J_{H_{15\beta}-H_{16\alpha}} = 5,6 \text{ Hz}$$



échelle 10 Hz/cm

Le proton H_{16} résonne sous la forme d'un quadruplet d'aspect variable selon qu'il est 16α ou 16β . Les valeurs moyennes des constantes de couplage $^3J_{H_{15\alpha,\beta}-H_{16\alpha,\beta}}$ pour le cycle C selon (6)

nous ont permis de construire les deux motifs théoriques du signal selon que H_{16} est axial ou équatorial (schéma 4). La comparaison du motif expérimental avec les deux motifs théoriques précédents permet d'attribuer la stéréochimie β à H_{16} donc la stéréochimie α au brome en 16.

Selon A. MARQUET et al. (5) les bromo-16 α stéroïdes dioxolannes traités par les amines tertiaires, en vue de l'élimination d'acide bromhydrique, sont inattaqués. Toutefois, L. PICHAT et al. (2) ont bien obtenu la débromhydratation du dihydroxy-3 α , 5 β bromo-16 ξ éthylènedioxy-17 androstane par l'action à 140°C du diaza-1,5-bicyclo [5.4.0] undécène-5 (DBU).

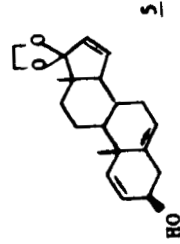
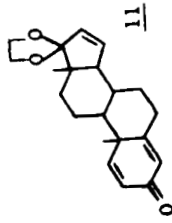
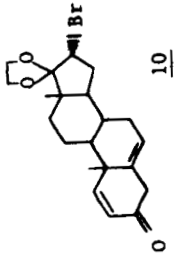
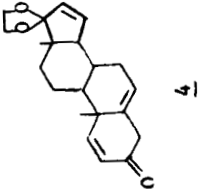
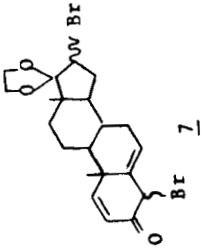
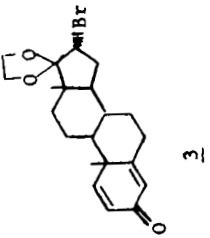
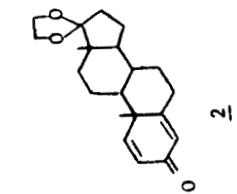
JOHNSON et JOHNS (7) ont rapporté l'emploi du tertiobutylate de potassium dans le toluène pour la débromhydratation de l'hydroxy-3 β bromo-16 α éthylène dioxy-17 (5 α) androstane. De plus, E. Shapiro et al. (8) ont utilisé le tertiobutylate de potassium dans le DMSO anhydre afin de déconjuguer le système $\Delta^{1,4}$ one-3 en système $\Delta^{1,5}$ one-3 dans de nombreux stéroïdes. Appliquée à 3 cette technique crée la liaison $\Delta^{1,5}$ et déconjugue simultanément $\Delta^{1,4}$ one-3 en $\Delta^{1,5}$ one-3.

Ainsi, 3 traité à 20°C dans le DMSO anhydre par un excès de tertiobutylate de potassium donne le stéroïde $\Delta^{1,5,15}$ déconjugué 4 avec un rendement de 55%. Au cours de la même réaction, nous avons isolé et caractérisé deux intermédiaires : l' [éthanediy l bis (oxy)-1,2]-17 bromo-16 α androstadiène-1,5 one-3 (10, Rdt 5%) et l' [éthanediy l bis (oxy)-1,2]-17 androstatriène-1,4,15 one-3 (11, Rdt 17%, schéma 3). 10 et 11 peuvent être retraités dans les mêmes conditions pour donner 4.

4 dissous dans un mélange $CH_2Cl_2-CH_3OH$ 1/4 est réduit par $NaBH_4$ à + 3°C en [éthanediy l bis (oxy)-1,2]-17 androstatriène-1,5,15 ol-3 β (5, Rdt 84%). La stéréochimie du carbone 3 a été assignée par analogie avec le travail de C. KANEKO et al. (9).

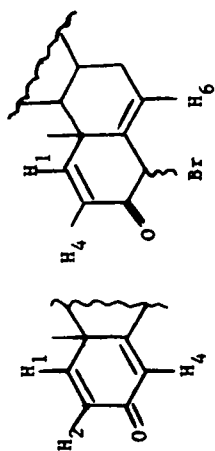
Le stéroïde alcool déconjugué 5 est réduit à 20°C par le tritium gaz sous pression normale en présence de chlorure de tris (triphénylphosphine) rhodium. Après hydrolyse acide du groupe acétale en C-17 suivie d'un traitement alcalin nous avons obtenu la DHA- [3H_3 -1,2, 15] (Rdt = 65% ; A.S. = 80 Ci /mM).

Les données spectrales les plus significatives ont été rassemblées dans les tableaux A et B et conduisent aux conclusions suivantes :

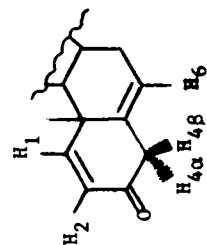


PRODUITS	CH ₃ (18) ppm	CH ₃ (19) ppm	PF °C	[α] D°	UV λ _{max} nm	UV ε
<u>2</u>	0,90	1,25	176	+ 12		
<u>3</u>	0,85	1,15	141	- 32	243,5	14 974
<u>7</u>	0,90	1,20	165	- 12	245,5	16 079
<u>4</u>	0,85	1,20	141	- 20	225	11 496
<u>10</u>	0,90	1,20	154	+ 32	225	11 701
<u>11</u>	0,90	1,20	202	- 52	243	14 752
<u>5</u>	0,90	1,10	193	- 120		

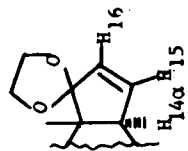
T A B L E A U A



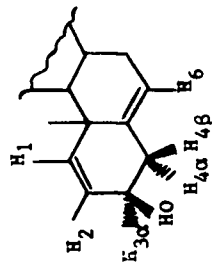
1, 2, 3



4, 10



4, 5, 11



5

PRODUITS	J ₂ H _{4α} -H _{4β}	J ₃ H ₁ -H ₂ H ₂ -H ₁	J ₃ H ₂ -H _{3α}	J ₃ H ₆ -H _{7α}	J ₃ H ₆ -H _{7β}	J ₃ H ₁₅ -H ₁₆ H ₁₆ -H ₁₅	J ₃ H ₁₅ -H _{14α}	J ₄ H ₁ -H _{3α}	J ₄ H ₁₆ -H _{14α}	J ₅ H ₂ -H ₄	J ₅ H ₂ -H _{4β}
<u>3</u>		10 Hz								2 Hz	
<u>7</u>		10 Hz		1,5 Hz	1,5 Hz						
<u>8</u>		10 Hz		1,5 Hz	1,5 Hz						
<u>9</u>		10 Hz		1,5 Hz	1,5 Hz						
<u>4</u>	17 Hz	11 Hz				6 Hz	2,5 Hz				
<u>10</u>	17 Hz	11 Hz									
<u>11</u>		10 Hz				6 Hz	2,5 Hz			2 Hz	
<u>5</u>		10 Hz	1,4 Hz			5,7 Hz	3,2 Hz	2 Hz	1,4 Hz	2 Hz	1,4 Hz

VALEURS DES CONSTANTES DE COUPLAGES

T A B L E A U B

1. RMN-¹H :

Le déplacement chimique du CH₃ (18) est pratiquement identique ($\delta = 0,85 - 0,90$ ppm) dans les stéroïdes possédant le système diénone $\Delta^{1,4}$ one-3 ou $\Delta^{1,5}$ one-3. Par contre, le passage du système $\Delta^{1,5}$ one-3 au système $\Delta^{1,5}$ ol-3 s'accompagne d'un blindage de 0,10 ppm pour le CH₃ (19) (δ varie de 1,25 à 1,20 ppm) en accord avec la littérature (8).

Nous avons calculé les constantes de couplages ²J, ³J, ⁴J et ⁵J essentiellement pour les protons des cycles A et D, mettant ainsi en évidence des couplages longue distance (¹J > ³J) d'environ 2 Hz.

2. POUVOIR ROTATOIRE OPTIQUE :

Le passage du système $\Delta^{1,5}$ ONE-3 au système $\Delta^{1,5}$ ol-3 est accompagné d'un effet levogyre important (- 100 de 4 à 5) décrit dans la littérature (10).

Il en est de même lorsque l'on passe d'une double liaison en position 4,5 en une double liaison en position 5,6. Par contre l'effet dextrogyre observé (3 → 10 : $\Delta\alpha = + 64^\circ$; 11 → 4 : $\Delta\alpha = + 30^\circ$) est caractéristique des stéroïdes non substitués sur le C-11 (10).

L'introduction d'un brome en position 16 α sur le cycle D s'accompagne d'un effet levogyre (2 → 3 : $\Delta\alpha = -44^\circ$). Nous pouvons contrôler le pouvoir rotatoire de 10 selon la séquence 2 → 3 → 10. La valeur trouvée + 32° est conforme à la valeur expérimentale.

L'introduction d'une double liaison en position 15, 16 s'accompagne toujours d'un effet levogyre (2 → 11 : $\Delta\alpha = -64^\circ$). La séquence 2 → 11 → 4 permet de contrôler cette valeur ($\Delta\alpha$ calculé = -34°, $\Delta\alpha$ expérimental = -32°).

3. ULTRA-VIOLET :

Cette méthode spectrale permet de distinguer les deux systèmes insaturés $\Delta^{1,4}$ one-3 et $\Delta^{1,5}$ one-3. Le système conjugué présente un maximum d'absorption vers 243-245 m ($\epsilon \sim 14800$) différent du système déconjugué ($\lambda_{\max} = 225$ m, $\epsilon \sim 11550$).

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres I.R. ont été réalisés sur un appareil BECKMAN 4250 (domaine 4000 à 200 cm⁻¹), les spectres U.V. sur un BECKMAN 5230 (domaine 340 à 190 μ m).

les spectres de résonance magnétique du proton ont été effectués sur :

- un appareil PERKIN-ELMER R12 à aimant permanent fonctionnant en onde continue de fréquence nominale 60 MHz.

- un appareil FT-80 VARIAN à électro-aimant fonctionnant en onde pulsée de fréquence nominale 80 MHz (PW (90°) = 19 µs).

Le spectromètre de masse est un appareil VARIAN CH 7A (tension d'ionisation 70 ev) utilisant le perfluorokérosène comme référence. Les échantillons sont introduits directement dans la source à une température variable. Les spectres sont normalisés par un calculateur INCOS 2200C (INCOS DATA SYSTEM, FINNIGAN MAT) couplé au spectromètre.

Les pouvoirs rotatoires optiques ont été mesurés à 20°C dans le méthanol (C = 0,25%) à 589 nm grâce à un micropolarimètre électronique JOBIN-YVON. La cellule de lecture a un trajet optique de 1 cm.

Les points de fusion ont été mesurés, sans correction de colonne émergente, sur un microscope à platine chauffante "REICHERT".

Les purifications ont été effectuées par chromatographie d'adsorption sur colonne de gel de silice MERCK type "60 H" (15 µ) "MINIPREP LC JOBIN-YVON" (pression du piston 10 bars). La pression du solvant peut varier de 1 à 10 bars. La sortie de colonne est équipée d'un réfractomètre différentiel WATERS ASSOCIATES R403 et d'un détecteur UV DUAL PATH MONITOR UV-2 (PHARMACIA FINE CHEMICALS).

La pureté chimique des différents composés a été contrôlée par chromatographie sur couche mince de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄.

1. (ETHANEDIYL -1,2 ACÉTAL)-17 CYCLIQUE DE LA BROMO-16α ANDROS-TADIENE-1,4 DIONE-3, 17. 3

200 mg de 2 (0,609 mM) sont dissous dans 1,6 ml de THF anhydre à 0°C puis additionnés en 5 mn d'une solution de PTT (JANSSEN CHIMICA, 97%) dans le THF anhydre (0,639 mM, 250 mg ; 0,9 ml THF). Après 2h de réaction à 0°C, le milieu hétérogène hydrolysé par 5 ml de NaHCO₃ à 5% est extrait par 4 x 3 ml d'éther.

La phase organique séchée (MgSO₄), filtrée (filtre MILLIPORE TEFLON LS) est concentrée sous vide. L'huile brune obtenue (350 mg) est purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice H MERCK CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95.05. On obtient 105 mg de 3 (forme cristallisée, rdt 42%), 129 mg de 7 (forme cristallisée,

Rdt 26%), 24 mg de 8 (amorphe, Rdt 10%) et 8 mg de 9 (amorphe, Rdt 4%).

ANALYSES :

* CCM de gel de silice MERCK 60F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05, R_F = 0,46
détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂, TMS référence) :

δ = 0,9 à 2,5 ppm (m, 19H), δ = 3,9 ppm (d de m, 4H, -OCH₂CH₂O-),

δ = 4,40 ppm (q, 1H, >CHBr, J_{16β-15β} = 11 Hz, J_{16β-15α} = 4 Hz),

δ = 5,9 ppm (t, 1H, H₄, J_{H₁-H₄} ~ J_{H₂-H₄} = 2 Hz), δ = 6,05 ppm (q,

1H, H₁, J_{H₁-H₂} = 10 Hz, J_{H₁-H₄} = 2 Hz), δ = 6,95 ppm (d, 1H, H₂, J_{H₂-H₁} = 10 Hz).

* UV (méthanol) : λ_{max} = 243,5 mμ, ε = 14974.

* IR (pastille KBr) : ν = 2940, 1660, 1620, 1600, 1440, 1400 cm⁻¹.

* SM : m/e (%) = 408 (5), 406 (6), 346 (5), 344 (3), 327 (26), 285 (5), 264 (13), 205 (6), 179 (6), 99 (100).

* PF = 141°C ; [α]_D^{18°C} = - 32°

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE LA DIBROMO-16ε, 4ε, ANDROSTADIENE-1,5
DIONE-3, 17 7

* CCM de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃- 95-05,
R_F = 0,63, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂, TMS référence).

δ = 0,9 à 2,5 ppm (m, 17H), δ = 3,90 ppm (d de m, 4H, -OCH₂CH₂O-),

δ = 4,40 ppm (m, 1H, >CHBr), δ = 4,90 ppm (m, 1H, >CHBr), δ = 6,1 ppm

(d, 1H, H₁, J_{H₁-H₂} = 10 Hz), δ = 6,5 (t, 1H, H₆, J_{H₆-H_{7α}} ~ J_{H₆-H_{7β}} = 1,5 Hz),

δ = 6,90 ppm (d, 1H, H₂, J_{H₂-H₁} = 10 Hz).

* UV (méthanol) λ_{max} = 245,5 mμ, ε = 16079.

* IR (pastille KBr) ν = 2930, 1660, 1620, 1450, 1400, 1380 cm⁻¹.

* SM : m/e (%) = 488 (0,3), 486 (0,6), 484 (0,3), 407 (28), 405 (23), 325 (8), 263 (3), 99 (100).

* PF = 155°C ; [α]_D^{18°C} = -12°

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE LA BROMO-4 ξ ANDROSTADIENE-1,5DIONE-3,17 8

* CCM de gel de silice MERCK 60F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05,
R_F = 0,51, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂, TMS référence).

δ = 0,9 à 2,5 ppm (m, 19H), δ = 3,80 ppm (s, 4H, -OCH₂CH₂O-),
 δ = 4,90 ppm (m, 1H, >C₄HBr), δ = 6,15 ppm (d, 1H, H₁,
J_{H₁-H₂} = 10 Hz), δ = 6,55 ppm (t, 1H, H₆, J_{H₆-H_{7 α}} ~ J_{H₆-H_{7 β}} =
1,5 Hz), δ = 6,95 ppm (d, 1H, H₂, J_{H₂-H₁} = 10 Hz).

* SM : m/e (%) = 408 (75), 406 (52), 327 (45), 326 (67),
265 (19), 99 (100).

BROMO-4 ξ ANDROSTADIENE-1,5 DIONE-3,17 9

* CCM de gel de silice MERCK 60F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05,
R_F = 0,45, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂-TMS référence).

δ = 0,9 à 2,75 ppm (m, 19H), δ = 4,90 ppm (m, 1H, >C₄HBr),
 δ = 6,15 ppm (d, 1H, H₁, J_{H₁-H₂} = 10 Hz), δ = 6,60 ppm (t, 1H,
H₆-H_{7 α} ~ J_{H₆-H_{7 β}} = 1,5 Hz), δ = 6,95 ppm (d, 1H, H₂, J_{H₂-H₁} =
10 Hz).

* SM : m/e (%) = 406, 364 (10), 362 (8), 283 (50), 282 (100),
267 (11), 265 (11), 159 (18), 149 (29), 121 (56).

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE L'ANDROSTATRIENE-1,5,15DIONE-3, 17 4

600 mg de **3** sec (1,5 mM) dissous dans 12 ml de DMSO anhydre fraîchement distillé sont additionnés en boîte à gants de 1g de tertio-butylate de potassium (9 mM). La réaction dure 1h à 20°C. Le milieu noir est traité à 0°C par : 30 ml H₂O + 30 ml d'éther. On extrait par 4 fois 30 ml d'éther. La phase organique, lavée par

4 fois 30 ml d'eau et séchée (MgSO_4 sec), est filtrée sur verre fritté n°4 puis concentrée sous vide. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice H MERCK CH_2Cl_2 - CH_3COCH_3 95-05. On obtient 271 mg de 4 (cristallisé, Rdt 55%), 83 mg de 11 (cristallisé, Rdt 17%) et 28 mg de 10 (cristallisé, Rdt 5%).

ANALYSES :

* CCM de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH_2Cl_2 - CH_3COCH_3 95-05, $R_F = 0,58$, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CDCl_2 , TMS référence).

$\delta = 0,9$ à $2,35$ ppm (m, 15H), $\delta = 2,95$ ppm (système AB, 2H₄, $J_{\text{H}_{4\alpha}-\text{H}_{4\beta}} = 17$ Hz), $\delta = 3,8$ ppm (s, 4H, -OCH₂CH₂O-), $\delta = 5,35$ ppm (m, 1H, H₆), $\delta = 5,55$ ppm (q, 1H, H₁₅, $J_{\text{H}_{15}-\text{H}_{16}} = 6$ Hz, $J_{\text{H}_{15}-\text{H}_{14\alpha}} = 2,5$ Hz), $\delta = 5,7$ ppm (d, 1H, H₁, $J_{\text{H}_1-\text{H}_2} = 11$ Hz), $\delta = 6,0$ ppm (d, 1H, H₁₆, $J_{\text{H}_{16}-\text{H}_{15}} = 6$ Hz), $\delta = 6,9$ ppm (d, 1H, H₂, $J_{\text{H}_2-\text{H}_1} = 11$ Hz).

* UV (méthanol) : $\lambda_{\text{max}1} = 225$ m μ ; $\lambda_{\text{max}2} = 206$ m μ , $\epsilon = 11496$

* IR (pastille KBr), $\nu = 3040, 2900, 1680, 1590, 1460, 1435, 1420, 1370, 1330$ cm⁻¹.

* SM = m/e (%) = 327 (49), 326 (100), 312 (16), 311 (36), 296 (7), 268 (13), 250 (8), 241 (12), 206 (24), 193 (16), 153 (27).

* PF = 141°C ; $\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = -20^\circ$

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE LA BROMO-16 α ANDROSTADIENE-1,5

DIONE-3, 17 10

* CCM de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH_2Cl_2 - CH_3COCH_3 95-05, $R_F = 0,67$, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD_2Cl_2 , TMS référence).

$\delta = 0,9$ à $2,2$ ppm (m, 17H), $\delta = 3,05$ ppm (système AB, 2H₄, $J_{\text{H}_{4\alpha}-\text{H}_{4\beta}} = 17$ Hz), $\delta = 3,95$ ppm (d de m, 4H, -OCH₂CH₂O-), $\delta = 4,50$ ppm (m, 1H, $>\text{C}_{16}\text{HBr}$), $\delta = 5,35$ ppm (m, 1H, H₆),

$\delta = 5,75$ ppm (d, 1H, H_1 , $J_{H_1-H_2} = 11$ Hz), $\delta = 6,9$ ppm (d, 1H, H_2 , $J_{H_2-H_1} = 11$ Hz).

* UV (méthanol) : $\lambda_{\max} = 225$ m μ , $\epsilon = 11701$.

* IR (pastille KBr) : $\nu = 3020, 2940, 1670, 1450, 1400, 1380$ cm $^{-1}$.

* SM : m/e (%) = 408 (14), 406 (10), 327 (5), 312 (2), 265 (4), 240 (3), 113 (9), 99 (100).

* PF = 154°C ; $\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = + 32^\circ$

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE L'ANDROSTATRIENE-1,4,15 DIONE-3,17 11

* CCM de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05,

R_F = 0,28, détection UV (254 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂, TMS référence).

$\delta = 0,9$ à $2,5$ ppm (m, 17H), $\delta = 3,8$ ppm (s, 4H, -OCH₂CH₂O-),
 $\delta = 5,55$ ppm (q, 1H, H_{15} , $J_{H_{15}-H_{16}} = 6$ Hz, $J_{H_{15}-H_{14\alpha}} = 2,5$ Hz),

$\delta = 5,9$ ppm (t, 1H, H_4 , $J_{H_4-H_2} \sim J_{H_4-H_1} = 2$ Hz), $\delta = 6,05$ ppm
 (q, 1H, H_1 , $J_{H_1-H_2} = 10$ Hz, $J_{H_1-H_4} = 2$ Hz), $\delta = 6,1$ ppm (d, 1H,

H_{16} , $J_{H_{16}-H_{15}} = 6$ Hz), $\delta = 6,95$ ppm (d, 1H, H_2 , $J_{H_2-H_1} = 10$ Hz).

* U.V. (méthanol) : $\lambda_{\max} = 243$ m μ , $\epsilon = 14752$

* IR (pastille KBr) : $\nu = 2900, 1650, 1615, 1600, 1435, 1400, 1380, 1370, 1335$ cm $^{-1}$.

* SM : m/e (%) = 327 (47), 326 (100), 311 (8), 205 (63), 152 (41), 125 (51), 99 (40).

* PF = 202°C ; $\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = -52^\circ\text{C}$

(ETHANEDIYL-1,2 ACETAL)-17 CYCLIQUE DE L'ANDROSTATRIENE-1,5,15 OL-3 B

ONE-17 5

100 mg de 4 (0,306 mM) dissous dans 19 ml du mélange CH₃OH-CH₂Cl₂ 4/1 à + 3°C sont additionnés de 64 mg de

NaBH₄ (97%; 1,64 mM). On agite le milieu 1h30 à + 3°C puis on rajoute 20 mg supplémentaires (0,53 mM) de NaBH₄. Après 30 mn de réaction à + 3°C, l'excès d'hydrure est détruit à 0°C par 6 ml du mélange 1/1 H₂O-CH₃COCH₃. Le milieu concentré sous vide jusqu'à un volume résiduel de 4 ml est extrait par 4 x 5 ml de CH₂Cl₂. La phase organique lavée par 2 x 20 ml H₂O, séchée (MgSO₄ sec) est filtrée (filtre MILLIPORE TEFLON LS 5μ) puis concentrée sous vide. Le résidu cristallisé (110 mg) est purifié par chromatographie sur colonne de silice H MERCK CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05.

On obtient 84 mg de 5 (cristallisé), Rdt : 84%.

ANALYSES :

* C.C.M. de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05, R_F = 0,42, détection H₃PO₄ 20% en UV (280 à 320 nm).

* RMN-¹H (CD₂Cl₂, TMS référence).

δ = 0,9 à 2,5 ppm (m, 17H), δ = 3,85 ppm (s, 4H, -OCH₂CH₂O-),

δ = 4,1 ppm (m, 1H, H_{3α}), δ = 5,3 ppm (m, 1H, H₆), δ = 5,5 ppm (s, 1H, H₂, J_{H₂-H₁} = 10 Hz, J_{H₂-H_{3α}} ~ J_{H₂-H_{4β}} = 1,4 Hz),

δ = 5,6 ppm (q, 1H, H₁₅, J_{H₁₅-H₁₆} = 5,7 Hz, J_{H₁₅-H_{14α}} = 3,2 Hz),

δ = 5,75 ppm (q, 1H, H₁, J_{H₁-H₂} = 10 Hz, J_{H₁-H₃} = 2 Hz),

δ = 6,1 ppm (q, 1H, H₁₆, J_{H₁₆-H₁₅} = 5,7 Hz, J_{H₁₆-H_{14α}} = 1,4 Hz),

* SM : m/e (%) = 329 (52), 328 (100), 313(25), 311 (11), 295 (10), 284 (9), 266 (6), 251 (15), 233 (13), 207 (26), 152 (22), 145 (10), 143 (12), 99 (46).

* UV (méthanol) : λ_{max} = 205,5 mμ, ε = 4151

* IR (pastille KBr) : ν = 3420, 2940, 2920, 1720, 1660, 1420, 1330, 1200, 1100, 1040 cm⁻¹.

* PF = 193°C ; [α]_D^{20°C} = -120°C

ANDROSTENE-5 OL-3β-[³H₃-1,2,15] **6**

5 mg (15,2 μmoles) de 5 dissous dans 1,5 ml du mélange

benzène-méthanol 1/1 sont réduits à 20°C par le tritium gaz sous pression normale pendant 24H en présence de 5 mg de $(PPh_3)_3RhCl$. Le milieu porté à sec, repris dans 0,25 ml d'eau - 4 ml d'acétone - 20 mg d'acide paratoluène sulfonique monohydrate est porté au reflux pendant 45 mn puis concentré sous vide. Le résidu dissous dans 4 ml de tBuOH + 0,2 ml KOH 12M est agité 20H à 38°C. Après évaporation sous vide, le milieu repris dans 10 ml H₂O est extrait par 2 fois 10 ml de CHCl₃. La phase organique portée à sec est purifiée sur une colonne de silice MERCK 60H éluée par le mélange benzène éther 50-50. On obtient 890 mCi de DHA- $[^3H_3 - 1,2,15]_6$ (Rdt = 65%, A.S. = 80 Ci/mM).

ANALYSES :

- * C.C.M. de gel de silice MERCK 60 F₂₅₄, CH₂Cl₂-CH₃COCH₃ 95-05, R_F = 0,44 ; détection par autoradiographie sur film KODAK KODIREX.
- * RMN-³H (CD₃OD, référence TMS).
 $\delta = 1,06$ ppm (d, T_{1 α} , J_{T_{1 α} -T_{2 α}} = 0,5 Hz), $\delta = 1,75$ ppm (d, T_{2 α} , J_{T_{2 α} -T_{1 α}} = 0,5 Hz), $\delta = 2,0$ ppm (s, T_{15 α}).
- * SM : m/e (%) = 295 (36), 289 (2), 279 (28), 278 (18),
 263 (19), 261 (11), 217 (10), 180 (10),
 149 (100), 131 (12), 125 (10), 119 (17).
- * HPLC : colonne ZORBAX ODS, solvant CH₃CN-H₂O 1/1, t_R = 10 mn.

BIBLIOGRAPHIE

=====

- 1 - E.E. BAULIEU, P. CORVOL, B. DESBUQUOIS, P. FREYCHET, J. HANOUNE, S. JARD, F. LABRIE, S. LISSITZKY, J. MENARD, E. MILGROM, P. ROYER.
 HORMONES aspects fondamentaux et physiopathologiques, 1978, HERMANN Editeur des Sciences et des Arts.

- 2 - R. EMILIOZZI, R. CONDOM, M. AUDINOT et L. PICHAT,
Bull. Soc. Chim. Fr., N°1, 131 (1971).
- 3 - T. PHILLIPS et K.H. CLIFFORD, Eur. J. Biochem., 61, 286 (1976).
- 4 - B. LÖKEN et M. GUT, Steroids, Suppl. I, 39 (1965).
- 5 - A. MARQUET, M. DVOLAITZKY, H.B. KAGAN, L. MAMLOK, C. OUANNES et J. JACQUES,
Bull. Soc. Chim. Fr. 1822 (1961).
- 6 - L.D. HALL et J.K.M. SANDERS, J. Amer. Chem. Soc., 102, 5703 (1980).
- 7 - W.S. JOHNSON et W.F. JOHNS, J. Amer. Chem. Soc., 79, 2005 (1957).
- 8 - E.L. SHAPIRO, T. LEGATT, L. WEBER et E.P. OLIVETO, Steroids, 3, 183
(1964).
E. SHAPIRO, L. WEBER, E.P. OLIVETO, H.L. HERZOG, R. NERI, S. TOLKSDORF,
M. TANABE et D.F. CROWE, Steroids, 8, 461 (1966).
- 9 - C. KANAKO, S. YAMADA, A. SUGIMOTO, Y. EGUCHI, M. ISHIKAWA, T. SUDA,
M. SUZUKI, S. KAKUKA et S. SASAKI, Steroids, 23, 75 (1974).
C. KANEKO, A. SUGIMOTO, S. YAMADA, M. ISHIKAWA, S. SASAKI et T. SUDA,
Chem. Pharm. Bull., 22 (9), 2101 (1974).
- 10 - POUVOIR ROTATOIRE NATUREL, J. JACQUES, H. KAGAN, G. OURISSON et S. ALLARD,
1965, PERGAMON PRESS.