

## Zur Massenspektrometrie von Gallensäurederivaten

Von

**H. Egger\***

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 17. Februar 1968)

Die *MS* von Gallensäurederivaten lassen eine Anzahl von Regelmäßigkeiten erkennen, welche die Methode für die Konstitutionsermittlung in dieser Substanzgruppe recht wertvoll machen. Diagnostisch brauchbare Peaks entstehen hauptsächlich durch Abspaltung der Seitenkette bzw. der Seitenkette samt dem Ring D (letzteres unter H-Wanderung); diese Fragmentierungen werden von einer stufenweisen Eliminierung der funktionellen Gruppen begleitet. Es werden die jeweils bevorzugten Abbauwege an Beispielen diskutiert. Die Art, Zahl und Position der Sauerstofffunktionen kann häufig aus dem *MS* allein ermittelt, oder auf wenige Möglichkeiten eingeschränkt werden. Die *MS* von 20 Gallensäurederivaten werden angegeben.

Mass spectra of bile acids follow a number of fragmentation rules, which make the method very useful for structure elucidation in this group. Diagnostically significant peaks mainly arise from the loss of the side chain, respectively of the side chain together with ring D (the latter with hydrogen transfer). These fragmentations are followed by successive eliminations of the functional groups. The conditions favouring a certain pathway are discussed. The type, number, and position of the oxygen functions may frequently be ascertained from the mass spectrum or may be reduced to a few possibilities. The mass spectra of 20 derivatives of bile acids are presented.

Im Verlaufe von Untersuchungen an „Pseudo-dehydrocholsäure“, die als Bis-steroid charakterisiert werden konnte<sup>1</sup>, wurden die Massenspektren (*MS*) einer Anzahl von Gallensäurederivaten zu Vergleichs-

\* Herrn Prof. Dr. L. Schmid in Verehrung zum 70. Geburtstag gewidmet.

<sup>1</sup> H. Egger, A. Nikiforov, F. Wessely und H. Nesvadba, Mh. Chem., im Druck.

zwecken studiert. Im folgenden soll dargelegt werden, daß die Zusammenhänge zwischen Konstitution und *MS* auch in dieser Verbindungsreihe wertvolle Aufschlüsse aus minimalen Probenmengen liefern.

Die Pionierarbeiten auf diesem Gebiet leisteten, wie auch sonst auf dem Gebiet der *MS* von Lipoiden, die Arbeitsgruppen von *Ryhage* und *Stenhagen*<sup>2,3</sup>. Wegen der Unzulänglichkeit der damaligen Probeneinführungssysteme mußten allerdings durchwegs an Carboxyl- und Hydroxylgruppen veresterte Derivate verwendet werden, und die hohen Einlaßtemperaturen (meist 250°) führten, neben gelegentlichen groben thermischen Zersetzungen, durch die starke zusätzliche thermische Anregung bei isomeren Verbindungen zu nivellierenden Effekten<sup>4</sup>. In jüngster Zeit konnten *Eneroth* und Mitarbeiter mit Hilfe der Direktkopplung Gaschromatograph—Massenspektrometer durch Verwendung von Trimethylsilyl- und Trifluoracetylderivaten komplizierte Gemische von Gallensäuren in biologischem Material erfolgreich analysieren<sup>5,6</sup>. An der Konstitutionsaufklärung des Gallenalkohols Ranol aus Froschgalle hatte die *MS* wesentlichen Anteil<sup>7</sup>.

Mit den nunmehr verfügbaren Einlaßsystemen gelingt es, auch von freien Gallensäuren ebenso wie von Derivaten mit mehreren Hydroxylgruppen und sogar von einzelnen (dimeren) Derivaten der „Pseudodehydrocholsäure“<sup>1</sup> meist *MS* ohne ernstliche Zersetzung zu erhalten. Dies fördert die Heranziehung zur raschen Untersuchung von Reaktionsprodukten (nötigenfalls in Kombination mit der Dünnschichtchromatographie) ungemain, zumal häufig eine Isolierung nicht nötig ist. Manchmal liefert die langsame Verdampfung in der Ionenquelle aus Intensitätsverschiebungen zusätzliche Anhaltspunkte über Gemische<sup>8</sup>.

In allen von uns untersuchten Verbindungen war das Molekülion einwandfrei erkennbar. Die Acetate neigen allerdings in der Regel stärker zur Eliminierung von Essigsäure als die entsprechenden freien Hydroxylverbindungen zur Abspaltung von Wasser. Zur Entscheidung darüber, ob eine Spitze tatsächlich das Molekülion eines Gallensäurederivates repräsentiert, scheint daher die Acetylierung von OH-hältigen Verbindungen nicht besonders geeignet.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß der als Schutzgruppe bei Steroiden häufig verwendete „Cathylrest“ ( $-\text{OCOOC}_2\text{H}_5$ )<sup>9</sup> sich massenspektrometrisch ziemlich analog dem Acetylrest verhält: Es erfolgt bei 3-Cathyl-5 $\beta$ -cholsäurederivaten Eliminierung von 90 Masseneinheiten

<sup>2</sup> *R. Ryhage* und *E. Stenhagen*, *J. Lipid Res.* **1**, 361 (1960).

<sup>3</sup> *S. Bergström*, *R. Ryhage* und *E. Stenhagen*, *Svensk Kem. Tidskr.* **73**, 566 (1961).

<sup>4</sup> *M. Spiteller-Friedmann* und *G. Spiteller*, *Chem. Ber.* **100**, 79 (1967).

<sup>5</sup> *P. Eneroth*, *B. Gordon*, *R. Ryhage* und *J. Sjövall*, *J. Lipid Res.* **7**, 511 (1966).

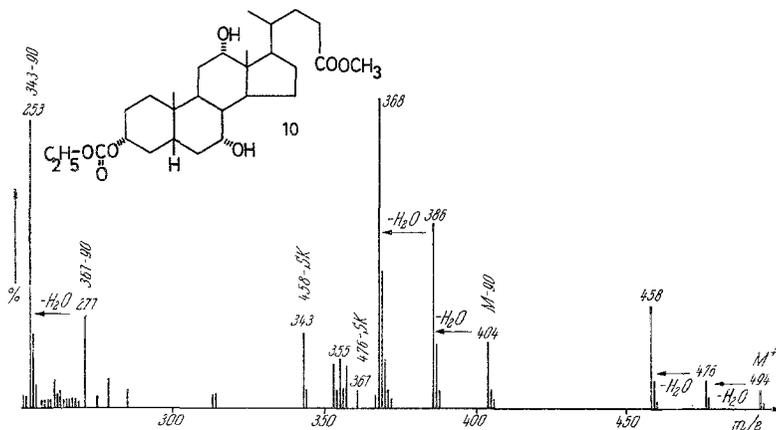
<sup>6</sup> *P. Eneroth*, *B. Gordon* und *J. Sjövall*, *J. Lipid Res.* **7**, 524 (1966).

<sup>7</sup> *A. D. Cross*, *Biochem. J.* **90**, 314 (1964).

<sup>8</sup> *G. Spiteller*, *Massenspektrometrische Strukturanalyse org. Verb.*, Weinheim 1966, S. 30.

<sup>9</sup> *L. F. Fieser* und *M. Fieser*, *Steroide*, Weinheim 1961, S. 209.

(*ME*), also (zumindest formal) von  $C_2H_5OH + CO_2$ . Diesen Übergängen entsprechende metastabile Peaks sind nachweisbar. Zusätzliche Fragmentierungen an der Carbäthoxygruppe treten nicht mit merklicher Intensität auf. Dieses Verhalten ist etwas überraschend, da andere Kohlensäureester, deren *MS* bereits ziemlich eingehend untersucht wurden<sup>10</sup>, völlig anders fragmentieren. Als charakteristisches Beispiel ist in Abb. 1 das *MS* von 3 $\alpha$ -Cathyl-cholsäuremethylester dargestellt.

Abb. 1. *MS* von 10

Die *MS* praktisch aller untersuchter Gallensäurederivate weisen den gleichen Habitus auf: In einem größeren Massenbereich unterhalb des Molekülions findet man die relativ wenigen Peaks, die — von einem detaillierten Fragmentierungsmechanismus zunächst abgesehen — leicht mit dem allgemeinen Abbauschema korreliert werden können und daher von potentiell diagnostischen Wert sind. Die untere Grenze dieses Massenbereiches ist hier durch das Skelett der Ringe A, B und C gegeben. Ein Abbau vom Ring A aus, z. B. als Retro-Diels—Alder-Reaktion<sup>11</sup>, spielt demgegenüber eine geringere Rolle. Die tiefergreifenden, zu kleineren Bruchstücken führenden Reaktionen (Massenbereich unter etwa 200 *ME*) liefern nur in einzelnen Fällen aus den vielen mit vergleichbarer Häufigkeit gebildeten Fragmenten klar herausragende Schlüsselbruchstücke.

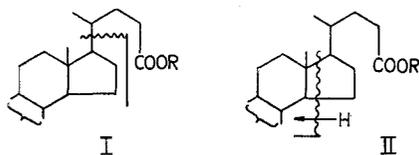
Zunächst zu den Zusammenhängen mit der Art und Zahl der funktionellen Gruppen, wobei es sich ja praktisch nur um Sauerstofffunktionen

<sup>10</sup> H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Mass Spectrometry of Org. Compounds*, San Francisco 1967, S. 484.

<sup>11</sup> H. Budzikiewicz, J. I. Brauman und C. Djerassi, *Tetrahedron* [London] **21**, 1855 (1965).

handelt: Die Carboxylgruppe der freien Gallensäuren macht sich in ihren *MS* nicht direkt bemerkbar, sie läßt sich (ohne Zuhilfenahme anderer Daten) nur indirekt aus der Massendifferenz bei bereits geklärtem Steroidskelett erschließen. Die Methyl- bzw. Äthylester hingegen sind häufig durch die Peaks  $M - \text{OCH}_3$  (31 *ME*) bzw.  $M - \text{OC}_2\text{H}_5$  (45 *ME*) und  $M - \text{CH}_2\text{COOCH}_3$  (73 *ME*) charakterisiert. Beim Vergleich einiger freier Säuren mit ihren Estern fanden sich z. T. beachtliche Differenzen in der relativen Intensität einander entsprechender Bruchstücke; im übrigen machen sich aber Verschiedenheiten in der Seitenkette nur durch Verschiebungen der Peaks im oberen Massenbereich bemerkbar.

Die wichtigsten Hinweise auf die Zahl und Art der O-Funktionen am Steroidskelett der Gallensäurederivate lassen sich aus den Massenzahlen und Intensitäten zweier Peakgruppen entnehmen. Die eine entspricht dem Verlust der Seitenkette ohne Nettoübertragung von H-Atomen, begleitet von mehrfachen Eliminierungen von OH-Gruppen als  $\text{H}_2\text{O}$  (bzw.  $-\text{OCOCH}_3$ -Gruppen als Essigsäure); dabei laufen anscheinend beide Möglichkeiten — zuerst Abspaltung der Seitenkette, darnach von  $\text{H}_2\text{O}$  bzw. die umgekehrte Reihenfolge — nebeneinander ab, wie aus den zugehörigen metastabilen Peaks hervorgeht<sup>12</sup>. Dies sei als „Spaltung I“ bezeichnet. Die zweite Peakgruppe stammt von einer Abspaltung des Ringes D samt der Seitenkette unter Wanderung eines Wasserstoffatoms zum Steroidrumpf („Spaltung II“)<sup>13</sup>. Auch hier finden sich zusätzlich analoge Abspaltungen von Substituenten aus den Ringen A, B und C wie bei Spaltung I.



Die relative Bedeutung dieser beiden Fragmentierungswege ist bei verschiedenen Verbindungen sehr unterschiedlich. Spaltung II dominiert bei allen untersuchten Verbindungen mit einer 12-Ketogruppe (Verbindungen 6, 7, 15, 16, 17, 19, 20). Dagegen ist Abbauweg II bei allen anderen bedeutungslos, stattdessen tritt Spaltung I in den Vordergrund; nur beim 3,7-Diketo-12-acetoxy-cholansäuremethylester (18) fand sich II neben Spaltung I. Es ist klar, daß die Massendifferenz zum Molgewichtspeak, die bei gewöhnlichen Gallensäuremethylestern bei Fragmentie-

<sup>12</sup> P. D. G. Dean und R. T. Aplin, *Steroids* 8, 565 (1966).

<sup>13</sup> C. Djerassi und L. Tökés, *J. Amer. Chem. Soc.* 8, 8536 (1966).

zung I 115 *ME*, bei II 155 *ME* beträgt, bei seltenen Gallensäurederivaten mit veränderter Seitenkette (z. B. Koprostanterüst<sup>12</sup>) auch darauf Schlüsse zuläßt.

Peaks der bei Steroiden ubiquitären Spaltung I sind immer nachweisbar, wenn auch neben II manchmal nur mit geringer Intensität. Ihr diagnostischer Wert besteht in der Möglichkeit eines Rückschlusses auf die Zahl der Sauerstofffunktionen im Steroidgerüst aus der Massenzahl.

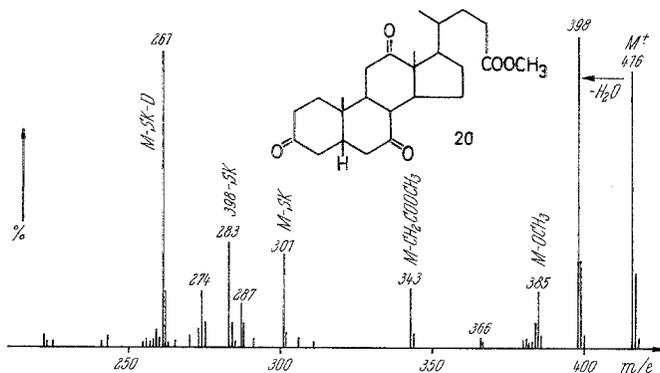


Abb. 2. *MS* von 20

Als (hypothetische) Basis dafür dient die Masse der unsubstituierten Ringe A, B, C, D: 259. Dieser Peak tritt jedoch wegen des völlig andersartigen Fragmentierungsverhaltens der Cholsäure in ihrem *MS* nicht auf. Eine Verschiebung um 14 *ME* auf 273 bzw. 28 *ME* auf 287 ist also z. B. bei Mono- bzw. Diketo-cholsäurederivaten zu erwarten. Verschiebungen unter den Wert 259 kommen durch Eliminierung von  $H_2O$ ,  $CH_3COOH$  o. ä. aus dem Skelett zustande, wodurch, allerdings wahrscheinlich meist nur formal, die Massenzahlen der entsprechenden Fragmente mit einer oder mehreren Doppelbindungen aufscheinen (z. B. 253 aus 259 —  $3 \times 2$  bei Cholsäure). Diese Zusammenhänge ergeben sich meist aus den zusätzlich vorhandenen Peaks der Zwischenstufen der Eliminierungen recht klar. Völlig analoge Verschiebungen lassen sich bei den Peakgruppen von Spaltung II feststellen.

Während die Zahl der Acetoxygruppen praktisch immer aus der Zahl der aufeinanderfolgenden Abspaltungen von 60 *ME* folgt — vorausgesetzt, daß der bei Acetaten mitunter sehr kleine Molgewichtspeak gesichert ist —, ist der analoge Schluß bei Hydroxysteroiden häufig irreführend. Insofern kann manchmal die zusätzliche Untersuchung des vollacetylierten Derivates nützlich sein. Es ist schon länger bekannt, daß auch Ketosteroiden in recht unterschiedlichem Ausmaß  $H_2O$  eliminieren

Tab. 1. Massenspektren von

Verb.	<i>M</i>	<i>M</i> - <i>n</i> × H <sub>2</sub> O (AcOH)	andere Fragmente: A
1	376 (36)	358 (100)	343 (358 - CH <sub>3</sub> ) (13)
2	392 (19)	374, 356 (45) (100)	341 (356 - CH <sub>3</sub> ) (28)
3	406 (5)	388, 370 (29) (40)	357 (388 - OCH <sub>3</sub> ) (10) 355 (370 - CH <sub>3</sub> ) (7)
4	392 (7)	374, 356 (100) (65)	359 (374 - CH <sub>3</sub> ) (15) 341 (356 - CH <sub>3</sub> ) (16)
5	406 (9)	388, 370 (100) (81)	373 (388 - CH <sub>3</sub> ) (21) 355 (370 - CH <sub>3</sub> ) (18) 315 (374 - CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> ) (9)
8	416 (74)	398 (42)	371 ( <i>M</i> - OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) (28) 329 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) (13)
9	422 (1)	404, 386, 368 (8) (100) (34)	371 (386 - CH <sub>3</sub> ) (14) 355 (386 - OCH <sub>3</sub> ) (8) 353 (368 - CH <sub>3</sub> ) (10)
11	506 (< 1)	446, 428 (446 - H <sub>2</sub> O) (6) (100) 386, 368 (386 - H <sub>2</sub> O) (11) (43)	355 (386 - OCH <sub>3</sub> ) (10) 353 (368 - CH <sub>3</sub> ) (6)
12	434 (9)	416, 398, 380 (14) (8) (5)	353 (398 - OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) (5) 347 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) (8) 329 (347 - H <sub>2</sub> O) (5)

## Gallensäurederivaten

Spaltung I	Spaltung II	andere Fragmente: B
257 (358-SK) (9)	—	304, 248, 230 (248-H <sub>2</sub> O), 215 (7) (19) (19) (52)
273 (374-SK) (7)	—	302, 264, 246 (264-H <sub>2</sub> O), 228 (246-H <sub>2</sub> O) (7) (19) (17) (28)
255 (273-H <sub>2</sub> O) (17)		213 (228-CH <sub>3</sub> ), 201 (21) (9)
273 (388-SK) (100) 255 (79)	—	173, 154 (13) (31)
273 (388-SK) (7) 255 (15)	—	264, 246, 231, 228, 213 (231-H <sub>2</sub> O) (5) (24) (27) (20) (37)
273 (29) 255 (96)	—	246, 231, 228, 213 (26) (34) (18) (41)
287 (M-SK) (24) 269 (287-H <sub>2</sub> O) (19)	247 (M-SK-D) (100)	—
289 (404-SK) (4) 271, 253 (74) (97)	—	314, 226 (8) (27)
313 (428-SK) (44) 253 (313-AcOH) (62)	—	357, 261 (8) (14)
287 (416-SK) (37) 269, 251 (100) (18)	—	—

Tabelle 1. (Fortsetzung)

Verb.	<i>M</i>	<i>M</i> - <i>n</i> × H <sub>2</sub> O ( <i>AcOH</i> )	andere Fragmente: A
13	462 (14)	444, 426, 402 (44) (54) (10) 384 (402 - H <sub>2</sub> O) (25) 366 (384 - H <sub>2</sub> O) (24)	371 (402 - OCH <sub>3</sub> ) (22)
14	492 (16)	474, 456, 402 ( <i>M</i> - 90) (23) (16) (35) 384 (402 - H <sub>2</sub> O) (44) 366 (384 - H <sub>2</sub> O) (23)	419 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> ) (5) 371 (402 - OCH <sub>3</sub> ) (12)
15	504 (53)	486, 444 ( <i>M</i> - <i>AcOH</i> ) (3) (100) 384 (24)	473 ( <i>M</i> - OCH <sub>3</sub> ) (8)
16	460 (100)	442, 400 ( <i>M</i> - <i>AcOH</i> ) (78) (16) 382 (400 - H <sub>2</sub> O) (28)	429 ( <i>M</i> - OCH <sub>3</sub> ) (17) 387 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> ) (15)
17	490 (56)	472, 400 ( <i>M</i> - 90) (52) (68) 382 (400 - H <sub>2</sub> O) (58)	459 ( <i>M</i> - OCH <sub>3</sub> ) (8) 417 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> ) (10) 369 (400 - OCH <sub>3</sub> ) (15)
18	460 (67)	442, 400 ( <i>M</i> - <i>AcOH</i> ) (4) (100) 382 (400 - H <sub>2</sub> O) (9)	429 ( <i>M</i> - OCH <sub>3</sub> ) (11)
19	402 (19)	384, 366 (61) (8)	367, 343 ( <i>M</i> - CH <sub>2</sub> COOH) (7) (9)

Spalte A: Fragmente, die ohne Bruch des Steroidskeletts gebildet werden.  
 Spalte B: Weitergehende andere Fragmentierungen.

Spaltung I	Spaltung II	andere Fragmente: B
329 (444— <i>SK</i> ), 311 (100) (35) 269 (329— <i>AcOH</i> ) (76) 251 (269— $H_2O$ ) (61)	—	289 (25)
359 (474— <i>SK</i> ) (44) 341 (359— $H_2O$ ) (13) 287 ( <i>M</i> —90— <i>SK</i> ), 269 (10) (100) 251 (269— $H_2O$ ) (51)	—	329, 311, 229 (17) (15) (14)
329 (444— <i>SK</i> ) (4) 311, 269 ( <i>M</i> —2 <i>AcOH</i> — <i>SK</i> ) (14) (15) 251 (269— $H_2O$ ) (16)	349 ( <i>M</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (6) 289 ( <i>M</i> — <i>AcOH</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (14) 229 ( <i>M</i> —2 <i>AcOH</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (81)	243, 154 (19) (71)
345 ( <i>M</i> — <i>SK</i> ), 327 (9) (24) 285 (345— <i>AcOH</i> ), 267 (27) (17)	305 ( <i>M</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ), (50) 245 (305— <i>AcOH</i> ), 227 (245— $H_2O$ ) (78) (12)	—
285 (400— <i>SK</i> ) (36) 267 (285— $H_2O$ ) (28)	335 ( <i>M</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (24) 245 ( <i>M</i> —90— <i>SK</i> — <i>D</i> ) (100)	327 (417—90), 258 (23) (24)
345 ( <i>M</i> — <i>SK</i> ), 327 (13) (8) 285 ( <i>M</i> — <i>AcOH</i> — <i>SK</i> ), 267 (10) (33)	305 ( <i>M</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (23) 245 ( <i>M</i> — <i>AcOH</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (48)	275, 259, 243, 154, 121 (18) (18) (26) (75) (61)
301 ( <i>M</i> — <i>SK</i> ) (23) 283 (384— <i>SK</i> ) (18)	261 ( <i>M</i> — <i>SK</i> — <i>D</i> ) (100)	287, 274 (21) (16)

*SK* = Seitenkette, *D* = Ring D. Die Zahlen bedeuten *m/e*-Werte; in Klammern ist jeweils darunter die rel. Intensität in % angegeben. Verb. 6, 7, 10 und 20 siehe Abb. 1—4.

können<sup>13</sup>. Unter den in Gallensäuren gefundenen C=O-Positionen scheint vor allem die 7-Ketogruppe dazu prädestiniert (vgl. die Intensitäten der entsprechenden Peaks in der Tab. 1). Wenn etwa, wie im *MS* des Dehydrocholsäureesters (20, Abb. 2), der starken *M* — 18-Spitze keine H<sub>2</sub>O-

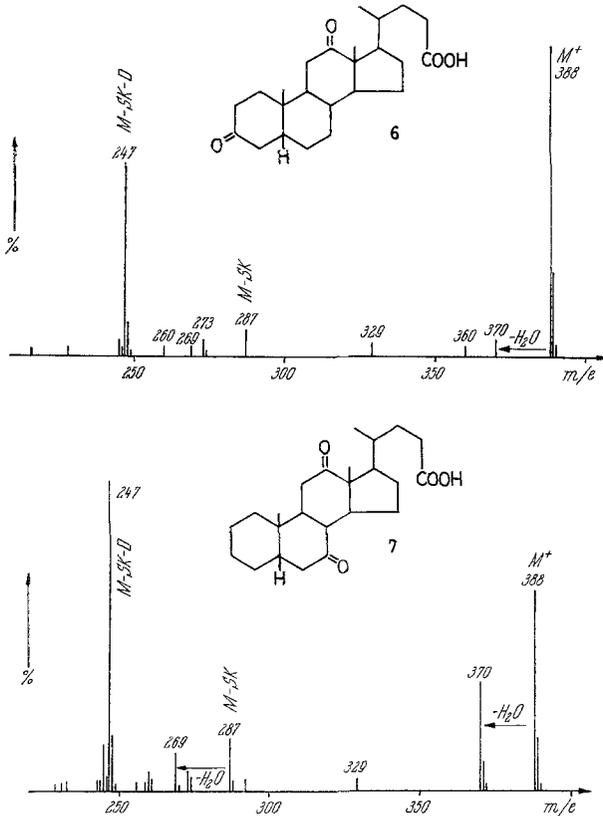


Abb. 3 und 4. *MS* von 6 und 7

Eliminierung bei Spaltung I oder II entspricht, liegt die Annahme nahe, daß es sich um eine durch eine C=O-Gruppe ausgelöste H<sub>2</sub>O-Eliminierung handelt. Eine 12- und vor allem eine 3-Ketogruppe zeigen eine solche H<sub>2</sub>O-Abspaltung viel schwächer.

So lassen sich etwa die *MS* von 3,12- und 7,12-Diketocholsäure leicht durch die wesentlich höhere *M* — 18-Spitze bei der 7,12-Diketocholsäure unterscheiden, obwohl im übrigen nur wenig charakteristische Unterschiede auftreten. Das *MS* der 3,7-Diketocholsäure<sup>13</sup> ist erwartungsgemäß von den beiden erstgenannten völlig verschieden, da hier

Fragmentierung I statt II eintritt (keine 12-Ketogruppe!). Die zu erwartende hohe  $M$  — 18-Spitze ist auch hier vorhanden.

Auf eine ähnliche Reihenfolge der  $H_2O$ -Eliminierung schließen auch *Dean* und *Aplin*<sup>12</sup> bei Hydroxy-gallensäuren: Da Retro-*Diels—Alder*-Spaltung im Ring A (Abspaltung von 54  $ME$  = Butadien) erst nach Eliminierung der letzten OH-Gruppe von 3-Hydroxy-gallensäuren eintritt, scheint diese am schwierigsten zu eliminieren.

- 1 3 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -cholansäure (Lithocholsäure)
- 2 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Dihydroxy-cholansäure\* (Chenodesoxycholsäure)
- 3 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dihydroxy-cholansäuremethylester (Desoxycholsäuremethylester)
- 4 3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -Dihydroxy-cholansäure (Hyodesoxycholsäure)
- 5 3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -Dihydroxy-cholansäuremethylester
- 6 3,12-Diketocholester
- 7 7,12-Diketocholester
- 8 7,12-Diketocholesteräthylester
- 9 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Trihydroxy-cholansäuremethylester (Cholsäuremethylester)
- 10 3 $\alpha$ -Cathyl-cholsäuremethylester
- 11 3,7-Diacetyl-cholsäuremethylester
- 12 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dihydroxy-7-ketocholesteräthylester
- 13 3 $\alpha$ -Acetoxy-7-keto-12 $\alpha$ -hydroxy-cholansäuremethylester
- 14 3 $\alpha$ -Äthoxycarbonyloxy-7-keto-12 $\alpha$ -hydroxy-cholansäuremethylester
- 15 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Diacetoxy-12-ketocholestermethylester
- 16 3 $\alpha$ -Acetoxy-7,12-diketocholestermethylester
- 17 3 $\alpha$ -Äthoxycarbonyloxy-7,12-diketocholestermethylester
- 18 3,7-Diketo-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäuremethylester
- 19 3,7,12-Triketocholester (Dehydrocholsäure)
- 20 3,7,12-Triketocholestermethylester.

Weitergehende Aussagen über die Positionen der funktionellen Gruppen in Gallensäurederivaten sind ohne Zuhilfenahme von Vergleichsspektren authentischer Verbindungen aus dem  $MS$  allein nur in Sonderfällen möglich. Ebenso sind Unterscheidungen von Epimeren, wenn überhaupt, nur durch sorgfältigen quantitativen Vergleich der  $MS$  der in Frage kommenden Verbindungen möglich. Kürzlich zeigte *Kallner*<sup>14</sup>, daß sich die  $MS$  von Allo-cholansäurederivaten (5 $\alpha$ -H) von denen entsprechender Cholansäuren (5 $\beta$ -H) geringfügig, jedoch signifikant unterscheiden. Die Massenspektrometrie ist also auch hier meist auf die Er-

\* Alle weiteren genannten Verbindungen sind 5 $\beta$ -Cholansäurederivate.

<sup>14</sup> *A. Kallner*, Chem. Acta Scand. **21**, 322 (1967).

gänzung durch andere geeignete Methoden (z. B. ORD oder NMR) angewiesen, liefert aber ihrerseits grundlegende Aussagen, die auf anderem Wege nur schwierig zu gewinnen sind.

Alle *MS* wurden mit einem Massenspektrometer CH 4 der Atlas-Werke, Bremen (Vakuumschleuse, TO-4-Ionenquelle), bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. Für die Messung einiger *MS* bin ich Herrn Dr. G. Schaden, Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Abteilung Strahlenchemie, Mülheim/Ruhr, zu Dank verpflichtet. Für die Überlassung von Substanzproben der Gallensäurederivate sei Herrn Dr. H. Nesvadba, Forschungslaboratorium der Fa. Sanabo, Wien, auch an dieser Stelle herzlich gedankt.