

ZUR LOKALISIERUNG FUNKTIONELLER GRUPPEN MIT HILFE DER MASSENSPEKTROMETRIE—XI¹

3,12,17 β -TRIHYDROXY-ANDROSTANE, 12, 17 β -DIHYDROXY-
ANDROSTAN-3-ONE, 3,12-DIHYDROXY-ANDROSTAN-17-ONE
UND 12-HYDROXY-ANDROSTAN-3,17-DIONE

E. ZIETZ und G. SPITELLER*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen, Germany

(Received in Germany 3 July 1973; Received in the UK for publication 30 October 1973)

Zusammenfassung—Massenspektrometrische Abbaureaktionen von Steroiden mit Hydroxylgruppen in den Stellungen 12 und 17 β sind stark abhängig von der Konfiguration der 12-ständigen OH-Gruppe: In Verbindungen mit einer α -konfigurierten Hydroxylgruppe in der Stellung 12 abstrahiert diese den 17 α -ständigen Wasserstoff und wird dann als H₂O eliminiert. In der Folge wird ein Methylradikal abgespalten. In den Isomeren mit 12 β -ständiger Hydroxylgruppe hingegen ist diese Reaktion nicht möglich. Es dominiert hier der Verlust der Kohlenstoffatome 15–17, bzw. die Bildung eines Ions unter Verlust eines zweiten Wassermoleküls. In 17-Ketosteroiden mit einer 12-ständigen Hydroxylgruppe werden bei Vorliegen eines *trans*-verknüpften A/B-Ringsystems bevorzugt Schlüsselionen der Masse 97 sowie M-44 und M-74-Ionen gebildet, während bei *cis*-Verknüpfung des A/B-Ringsystems weniger typische Abbaureaktionen eintreten.

Abstract—Mass spectrometric degradation reactions of steroids with hydroxy groups in positions 12 and 17 β depend on the configuration of the C-12 hydroxy group. In compounds with a 12 α -hydroxy group, this group and the hydrogen in position 17 α is eliminated as H₂O. This reaction is followed by loss of a methyl radical. In the isomers with a 12 β -hydroxy group this reaction is not possible. Here the loss of carbon 15–17 dominates the production of an ion by loss of two molecules of water. Key ions of mass 97 as well as M-44 and M-74 ions are produced by 17 keto steroids with a hydroxy group in position 12. If the rings A and B are *cis*-connected less specific degradation reactions are observed.

Im Zuge unserer systematischen Studien der Massenspektren von Steroiden mit drei Sauerstoffsubstituenten stellten wir Androstanderivate mit Hydroxylfunktionen in den Stellungen 3, 12 und 17 sowie 12, 17 β - Dihydroxy - androstan - 3 - one, 3, 12 - Dihydroxy - androstan - 17 - one und 12 - Hydroxy - androstan - 3, 17 - dione dar und untersuchten ihre Massenspektren.

Zur Herstellung der Untersuchungsproben

Durch LiAlH₄-Reduktion von 3 β - Acetoxy - 5 α - pregnan - 16 α , 17 α - epoxy - 12, 20-dion (1)—hergestellt aus Hecogeninacetat nach dem Marker-Verfahren^{2,4} und anschließender Epoxidierung⁵—wurde ein Gemisch der an C-12 und C-20 isomeren Tetrole 2 erhalten. Aus diesen konnte durch Spaltung mit Perjodsäure⁶ und nachfolgende Trennung an Kieselgel 3 β , 12 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3) und 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a) gewonnen werden.

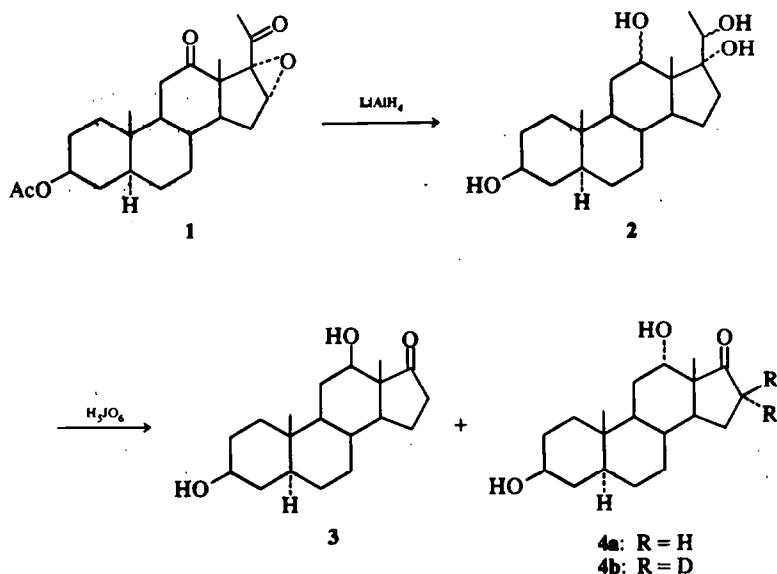
Durch Natriumborhydridreduktion⁷ von 3 bzw. 4a erhielten wir 3 β , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (5a) bzw. 3 β , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (6a). Aus 5a wurden durch Oppenaueroxidation⁸ 12 β , 17 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 3 - on (7) und 12 β - Hydroxy - 5 α -

androstan - 3, 17 - dion (9) erhalten. Die dazu isomeren Verbindungen 12 α - Hydroxy - 5 α - androstan - 3, 17 - dion (8) und 12 α , 17 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 3 - on (10) wurden aus 4a bzw. 6a ebenfalls durch Oppenaueroxidation⁸ dargestellt.

Zur Darstellung von 5 β -konfigurierten Androstanderivaten mit Sauerstoffsubstituenten in den Positionen 3, 12 und 17 wurde von der Desoxycholsäure ausgegangen, aus der durch modifizierten Barbier-Wieland-Abbau¹¹⁻¹⁴ 3 α , 12 α - Diacetoxy - 5 β - pregnan - 20 - on (11) erhalten wurde. Dieses lieferte nach Persäureoxidation (Bayer-Villiger-Oxidation) und folgender Hydrolyse das 3 α , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstan (12),¹⁵ dessen Oppenaueroxidation⁸ 12 α , 17 β - Dihydroxy - 5 β - androstan - 3 - on (13) und 12 α - Hydroxy - 5 β - androstan - 3, 17 - dion (14) ergab.

Andererseits führte die Acetylierung von 11 zum Enolacetat 15,¹⁶ das durch Oxidation mit Monoperphthalsäure¹⁷ in das Epoxid 16 überführt werden konnte.²⁸ Dieses lieferte mit LiAlH₄ das Tetrol 17, aus dem schliesslich durch Perjodsäurespaltung⁶ das 3 α , 12 α - Dihydroxy - 5 β - androstan - 17 - on (18) dargestellt werden konnte.

Aus 12 β - Hydroxy - 4 - androsten - 3, 17 - dion (19)¹⁸ schliesslich wurde durch Hydrierung mit



Pd/CaCO_3 ¹⁹ 12β -Hydroxy- 5β -androstan-3,17-dion (20) erhalten, das mit NaBH_4 zu dem $3\alpha, 12\beta, 17\beta$ -Trihydroxy- 5β -androstan (21) reduziert wurde.¹⁰

lungen 12 und 17. Verbindungen, die das Strukturelement 22 enthalten, wie das $3\beta, 12\alpha, 17\beta$ -Trihydroxy- 5α -androstan (6a) (Abb 1) und das $3\alpha, 12\alpha, 17\beta$ -Trihydroxy- 5β -androstan (12) (Abb 2), zeichnen sich durch extrem hohe Neigung zur Eliminierung von Wasser und anschliessend von einem Methylradikal aus. Essentiell für diese starke

Diskussion der Massenspektren

Verbindungen mit Hydroxylgruppen in den Stel-

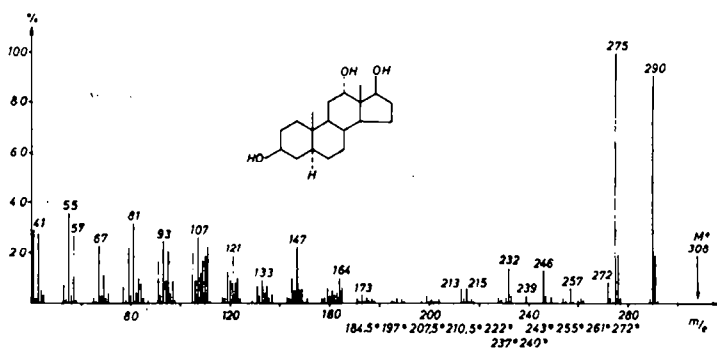


Abb 1. $3\beta, 12\alpha, 17\beta$ -Trihydroxy- 5α -androstan (6a).

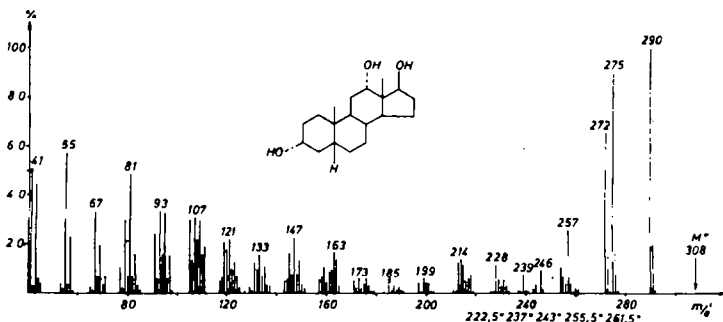
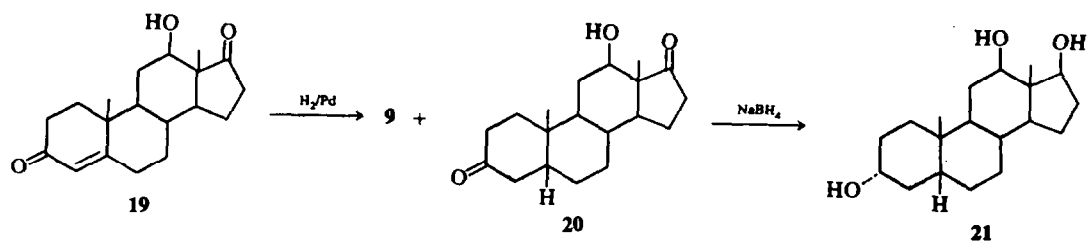
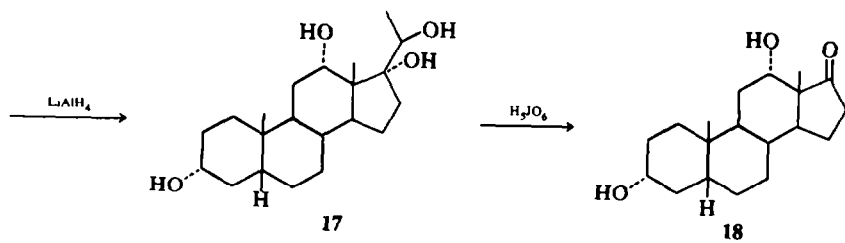
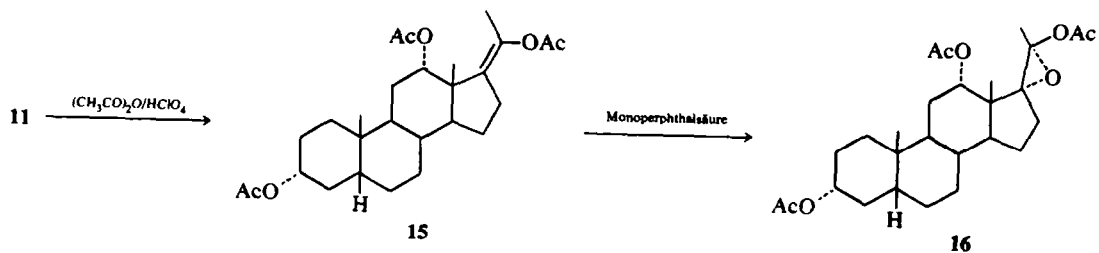
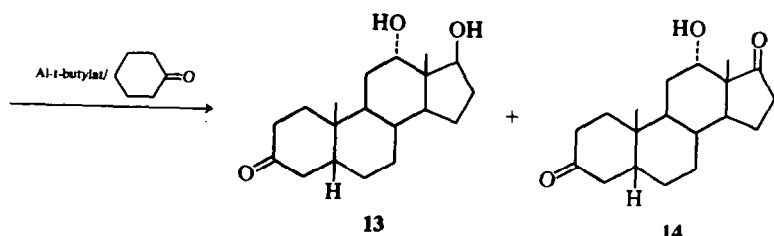
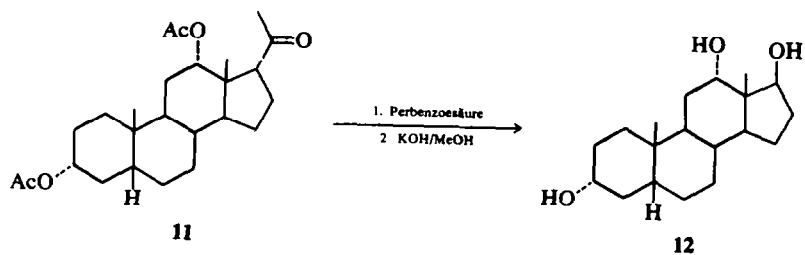


Abb 2. $3\alpha, 12\alpha, 17\beta$ -Trihydroxy- 5β -androstan (12).



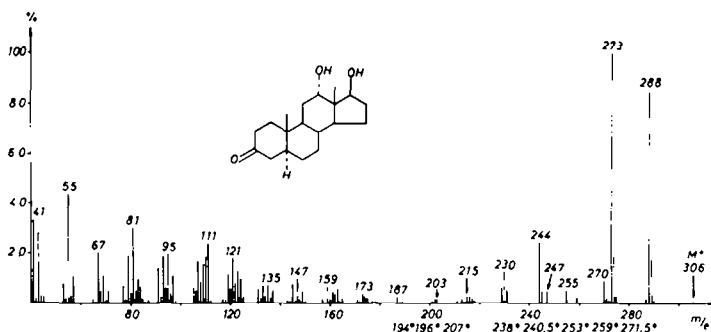


Abb 3. $12\alpha,17\beta$ -Dihydroxy- 5α -androstan-3-on (10).

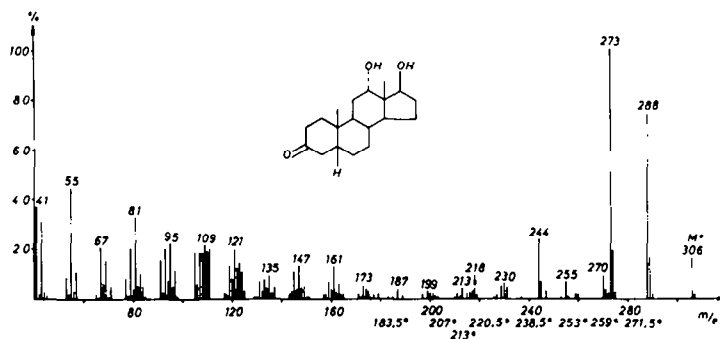
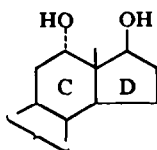


Abb 4. $12\alpha,17\beta$ -Dihydroxy- 5β -androstan-3-on (13).

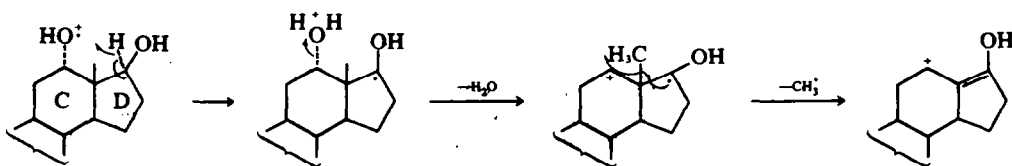


22

Gegenüber der Bildung von M-33 Ionen treten alle anderen Spaltreaktionen weit an Bedeutung zurück: Aus Wasserabspaltungsprodukten, an deren Bildung offenbar auch andere Wasserstoffe als der an C-17 beteiligt sind, kann bei Bruch der von C-13 zu C-17 führenden Bindung Verlust von Acetaldehydenol unter Bildung eines M-62 Spaltstückes eintreten. Daneben ist aus diesen Wasserabspaltungsprodukten auch die Eliminierung von C-15 bis C-17 möglich, was die Entstehung der Ionen der Masse 232 im Falle von 6a (Abb 1) bzw. 230 im Falle von 10 (Abb 3) und 13 (Abb 4) erklärt.

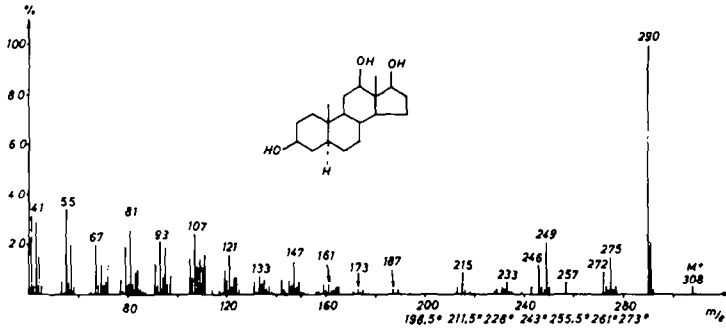
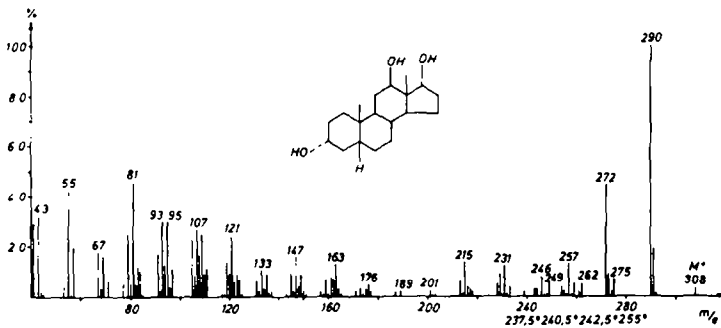
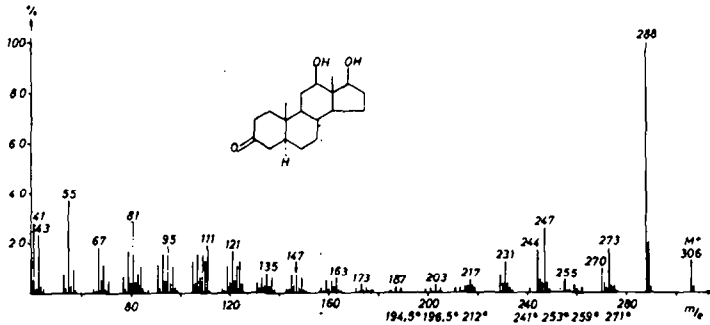
trums von 17α -d, - 5α -Androstan- 3β , $12\alpha,17\beta$ -triol (6b) ergab, dass aus dem Molekül weitgehend DHO eliminiert wird, so dass die Wasserabspaltungsreaktion in folgender Weise zu formulieren ist:

Da in Verbindungen, die eine 3α -konfigurierte



Das so gebildete Wasserabspaltungsprodukt kann durch Eliminierung der an C-13 gebundenen Methylgruppe in ein stabiles Allylkation übergehen. Die bevorzugte Bildung von M-33 Ionen in $12\alpha,17\beta$ -Dihydroxysteroiden ist damit gut verständlich.

Hydroxylgruppe tragen und in denen die A/B-Ringe *cis*-verknüpft sind, bevorzugt Wasserabspaltung erfolgt,²⁰ tritt in der Verbindung 12 (Abb 2) nach der ersten Wassereliminierung noch eine zweite Wasserabspaltung mit hoher Wahrscheinlichkeit ein, so dass M-36 Ionen entstehen. In gleicher

Abb 5. 3 β ,12 β ,17 β -Trihydroxy-5 α -androstan (5a).Abb 6. 3 α ,12 β ,17 β -Trihydroxy-5 β -androstan (21).Abb 7. 12 β ,17 β -Dihydroxy-5 α -androstan-3-on (7).

Weise wird aus dem M-62 Ion Wasser zum Fragment der Masse 228 eliminiert.

In den Massenspektren des 3 β , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstans (5a) (Abb 5), des 3 α , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstans (21) (Abb 6) und des 12 β , 17 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 3 - ons (7) (Abb 7) erreichen die M-33 Ionen im Vergleich zu Verbindungen, die das Strukturelement 22 enthalten, viel geringere Intensität.

Demgegenüber zeigen auch diese Verbindungen wie viele andere Di- und Tri-hydroxysteroiden²⁰⁻²² relativ hohe Neigung zur Wassereliminierung. Wie

das Spektrum der in 17 α -Stellung deuterierten Verbindung 5b an der ausschliesslichen Eliminierung von H₂O zeigt, wird bei dieser Reaktion kein Wasserstoff aus der 17 α -Stellung abgespalten. Auch aus Modellbetrachtungen lässt sich nicht erkennen, welcher Wasserstoff mit der OH-Gruppe in Form von Wasser eliminiert wird: Beispielsweise sind die äquatorial-ständigen Hydroxylgruppen in Stellung 12 und 17 in 5a nur der Methylgruppe in Stellung 13 so nahe, dass eine Wasserabspaltung möglich wäre, jedoch treten diese Reaktionen bei entsprechenden Monohydroxyverbindungen nicht

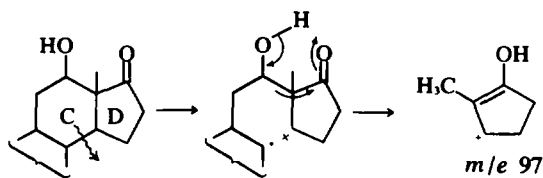
ein. Wir vermuten daher, dass der Wassereliminierung der Bruch einer C—C-Bindung vorausgehen könnte. Eine mechanistische Deutung der Reaktion ist derzeit aus dem uns zugänglichen Spektrenmaterial noch nicht möglich. In Folgeschritten kann es zur Abspaltung eines zweiten Wassermoleküls und danach zum Verlust einer Methylgruppe kommen.

Wie in Verbindungen mit 12α -ständiger Hydroxylgruppe **6a**, **12**, **10** und **13** wird auch die Bildung von M-62 Ionen beobachtet. Gegenüber den Spektren mit 12α -ständiger Hydroxylgruppe ist neben der viel geringeren Intensität der M-33 Ionen das Auftreten von M-59 Bruchstücken ein weiterer charakteristischer Unterschied. Diese Ionen zeigen den Verlust der C-Atome 15 bis 17 unter gleichzeitiger Wasserstoffverschiebung an das eliminierte Teilchen an. Bei Vorliegen einer 3α -ständigen Hydroxylgruppe an einem *cis*-verknüpften A/B-Ringsystem **21** erfolgt allerdings aus dem primären Spaltprodukt leicht Wasserabspaltung, so dass an Stelle der M-59 Fragmente die Folgespaltprodukte M-77 höhere Intensität erreichen (Abb 6).

Verbindungen mit einer Hydroxylgruppe in der Stellung 12 und einer Carbonylfunktion in Position 17. Bei Ersatz der 17β -ständigen Hydroxylgruppe durch eine Carbonylfunktion beobachtet man geringere Unterschiede in den Spektren von Isomeren, die sich nur in der Konfiguration der Hydroxylgruppe in Stellung 12 unterscheiden. Dies gilt insbesondere für Spektren von Verbindungen, in denen die Ringe A und B miteinander *cis*-verknüpft sind, weil dann auch Spaltreaktionen bedeutsam werden, die das A/B-Ringsystem betreffen.

In Verbindungen mit *trans*-verknüpftem A/B-Ringsystem, dem 3β , 12α - Dihydroxy - 5α - androstan - 17 - on (**4a**) (Abb 8), dem 3β , 12β - Dihydroxy - 5α - androstan - 17 - on (**3**) (Abb 9), dem 12α - Hydroxy - 5α - androstan - 3, 17 - dion (**8**) (Abb 10) und dem 12β - Hydroxy - 5α - androstan - 3, 17 - dion (**9**) (Abb 11) treten drei Schlüsselionen auf, die auch in Verbindung **20** (Abb 14) mit 5β -Konfiguration vorherrschen: In allen vier Spektren ist die relativ hohe Intensität des Ions der Masse 97, C_6H_9O

(Gef: 97.06546, Ber: 97.0653) auffallend. Es entsteht durch primäre Spaltung der Bindung zwischen C-8 und C-14, an die sich eine McLafferty-Umlagerung anschließt:



Ein weiteres Schlüsselbruchstück entsteht durch Eliminierung von C-16 und C-17 in Form eines Acetaldehydenolmoleküls, eine Reaktion, die sehr häufig bei Steroiden mit einer Carbonylfunktion in Stellung 17 beobachtet wird.^{20, 23-25}

Die Abspaltung von C_2H_4O könnte auch als Verlust der C-Atome 11 und 12 gedeutet werden. Diese Deutungsmöglichkeit konnte durch Aufnahme des Spektrums von 16, $16-d_2$, 3β , 12α - Dihydroxy - 5α - androstan - 17 - on (**4b**) ausgeschlossen werden, da es ein Schlüsselion bei M-46, dem Verlust von $CD_2=CHOH$ entsprechend, zeigt.

Das dritte Schlüsselion entsteht durch Eliminierung der C-Atome 15, 16 und 17 und der 12β -ständigen Hydroxylgruppe in Form von Wasser, so dass ein M-74 Ion gebildet wird.

Das Ausmass der beiden letzten Abbauprozesse ist offenbar abhängig von der Konfiguration der Hydroxylgruppe in der Stellung 12. Die Acetaldehydenolabspaltung, die zu einem M-44 Ion führt, ist erleichtert bei Verbindungen mit einer 12α -ständigen Hydroxylgruppe, nämlich **4a** und **8**, (Abb 8 und Abb 10), während bei den Verbindungen **3** und **9** mit 12β -konfigurierter Hydroxylgruppe die Bildung des M-74 Ions dominiert. Alle anderen Abbaureaktionen sind demgegenüber nicht sehr bedeutsam: In allen Verbindungen erfolgt Wasserabspaltung, der Verlust eines Methylradikals und die Abspaltung von Wasser und einem Methylradikal, der Verlust der C-Atome 15 bis 17 als C_3H_5O -Teilchen sowie die Abspaltung von $C_4H_7O_2$ (M-87).

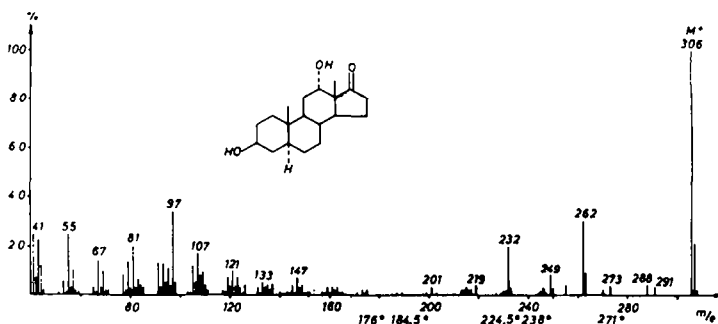


Abb 8. $3\beta, 12\beta$ -Dihydroxy- 5α -androstan-17-on (**4a**).

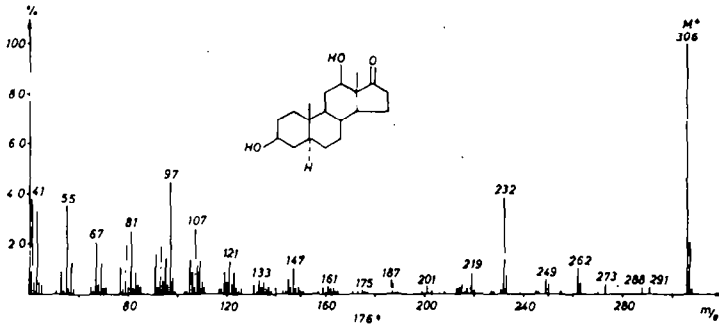


Abb 9. 3β,12β-Dihydroxy-5α-androstan-17-on (3).

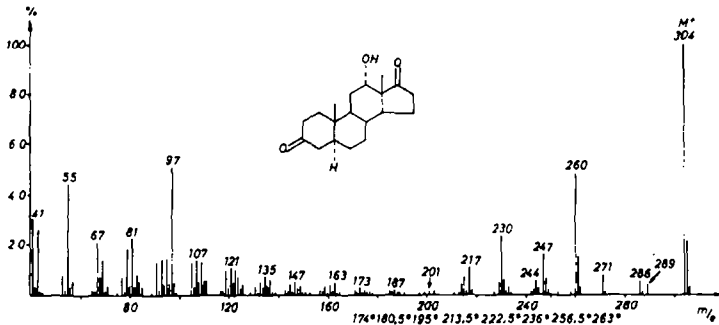


Abb 10. 12α-Hydroxy-5α-androstan-3,17-dion (8).

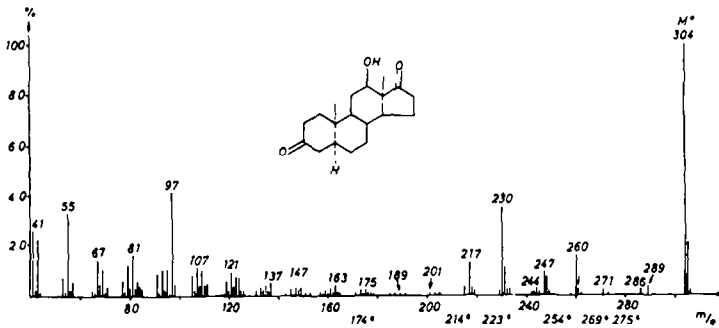


Abb 11. 12β-Hydroxy-5α-androstan-3,17-dion (9).

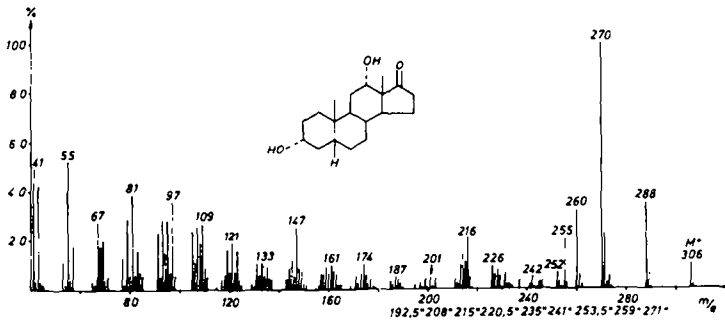
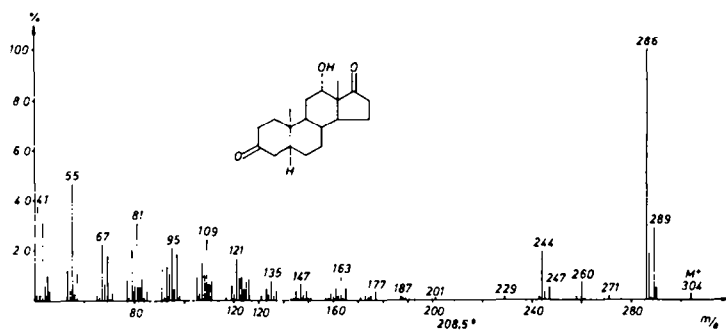
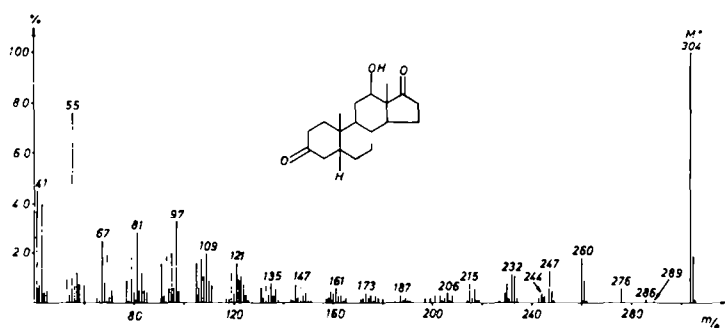
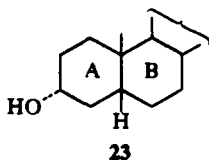


Abb 12. 3α,12α-Dihydroxy-5β-androstan-17-on (18).

Abb 13. 12 α -Hydroxy-5 β -androstan-3,17-dion (14).Abb 14. 12 β -Hydroxy-5 β -androstan-3,17-dion (20).

Bei den Verbindungen mit *cis*-verknüpftem A/B-Ringsystem und einer 12 α -ständigen Hydroxylgruppe, dem 3 α , 12 α -Dihydroxy-5 β -androstan-17-on (18) (Abb 12) und dem 12 α -Hydroxy-5 β -androstan-3,17-dion (14) (Abb 13) ist die hohe Neigung zur Wasserabspaltung auffällig. Im Falle von 18, das eine 3 α -ständige Hydroxylgruppe bei gleichzeitiger *cis*-Verknüpfung des A/B-Ringsystems enthält, ist auch die Eliminierung der 3-ständigen Hydroxylgruppe begünstigt, so dass das Spektrum als Hauptbruchstück das Ion bei M-36 zeigt (Abb 12). Weitere wichtige Spaltstücke entstehen wie bei anderen Verbindungen,²⁶ die das Strukturelement 23 enthalten, nach der Abspaltung der 3 und der 12-ständigen Hydroxylgruppe in Form von Wasser aus dem Molekülion durch Eliminierung der C-Atome 1 bis 4 als Butadien, bzw. durch Abspaltung von Äthylen unter Bildung der Ionen der Masse 216 bzw. 260:



Bei 14 erfolgt mit hoher Wahrscheinlichkeit aus dem Wasserabspaltungsprodukt die Eliminierung

von C-16 und C-17 als Ketenmolekül, so dass ein M-60 Ion entsteht, das aus der isomeren Verbindung 8 mit *trans*-verknüpftem A/B-Ringsystem nicht gebildet wird. Dadurch ist eine eindeutige Unterscheidungsmöglichkeit der beiden Isomeren gewährleistet, zumal auch noch andere Abbaureaktionen unterschiedlich ablaufen.

Bei 12 β -Hydroxy-5 β -androstan-3,17-dion (20) (Abb 14) treten vorzugsweise die für den D-Ring typischen Spaltungsreaktionen, nämlich die Bildung von M-44 und M-57 Fragmenten ein, wie dies auch für die entsprechenden 12 β -Hydroxyverbindungen mit *trans*-verknüpftem A/B-Ringsystem 3 und 9 der Fall ist. Auch die Bildung von M-74 Ionen ist ein relativ wahrscheinlicher Prozess. Eine Unterscheidung gegenüber dem Isomeren mit *trans*-verknüpftem A/B-Ringsystem ist durch die unterschiedliche Tendenz zur Bildung des Bruchstückes M-74 sowie durch die relativ starke Neigung zum Verlust von CO in 20 gegeben.

EXPERIMENTELLER TEIL

(1) Aufnahme der massenspektren (MS)

Die Massenspektren wurden mit einem Varian-MAT CH 4 Massenspektrometer durch direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle E-4B aufgenommen. Die Elektronenenergie betrug 70 eV, die Ionenquellentemperatur 80–100°. Die Verdampfungstemperatur der Proben lag bei den Trihydroxyverbindungen zwischen 130° und 145°, bei den übrigen Verbindungen zwischen 80°

und 125°. Bruttoformeln wurden durch "peak-matching" mit einem SM 1 B Massenspektrometer der Fa. Varian bestimmt.

Wir danken Dr. G. Remberg für die Ausführung dieser Messungen.

(2) Dünnschichtchromatographie (DC)

Zur präparativen Trennung und Reinigung wurde, wenn nicht besonders vermerkt, Kieselgel HR der Fa. Merck verwendet. Die Schichtdicke betrug 0.5 bzw. 1 mm, bei Substanzmengen unter 30 mg 0.25 mm. Es wurde jeweils eine Kombination von Stufen- und Mehrfachchromatographie³¹ angewandt. Die Laufmittelgemische sind bei der Beschreibung der Darstellung der Verbindungen angegeben.

Die analytische DC wurde durchweg auf Kieselgel H der Fa. Merck bei einer Schichtdicke von 0.25 mm ausgeführt. Als Sprühreagenz benutzten wir ausschliesslich Anisaldehyd/Schwefelsäure in Eisessig.

(3) Gaschromatographie (GC)

Zur vollständigen Reinigung war gelegentlich eine gaschromatographische Trennung notwendig, dazu wurde ein Varian-Aerograph 1700, ausgestattet mit Flammenionisationsdetektor und Ganzglassystem, verwendet. Die Proben wurden direkt auf die Säule gespritzt (1/4 Zoll, Trägermaterial: Chromosorb W-AW-DMCS 80-100 mesh, belegt mit 3% OV 17; Säulentemperatur: 230-280°; Temperatur von Einspritzblock und Detektor: 280°. Trägergas N₂, 40 ml/Min).

(4) Schmelzpunkte

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind unkorrigiert.

(5) Darstellung der Verbindungen

Isomerengemisch von 3 β , 12, 17 α , 20 - tetrahydroxy - 5 α - pregnan (2) aus 3 β - Acetoxy - 5 α - pregnan - 16 α , 17 α - epoxy - 12, 20 - dion (1). Zu einer Suspension von 1.5 g LiAlH₄ in 175 ml abs. Tetrahydrofuran (THF) wurde während einer 1/2 Stunde eine Lösung von 1.1 g Epoxid (1) in 100 ml abs. THF zugetropft und über Nacht unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen der Mischung wurde mit eiskaltem Essigester versetzt und mit 20 ml Eiswasser hydrolysiert. Der Aluminiumhydroxyd-Niederschlag wurde abgenutscht und im Soxhlet mit THF extrahiert. Die vereinigten Lösungsmittel wurden im Vakuum eingedampft. Es fielen 1.2 g kristallines Rohprodukt an, das direkt weiter umgesetzt wurde.

3 β , 12 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3) und 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a) aus dem Isomerengemisch von 3 β , 12, 17 α , 20 - Tetrahydroxy - 5 α - pregnan (2). 1.2 g Isomerengemisch der Tetrole 2 wurden in 72 ml Methanol gelöst und mit 1.92 g Perjodsäure in 14.4 ml Wasser behandelt.⁶ Nach 20 Stunden Stehen bei Raumtemperatur wurden 745 mg kristallines Rohprodukt isoliert, das auf einer Kieselgelsäule getrennt wurde: 75 g Kieselgel von 0.05-0.25 mm Korngrösse, eluiert mit je 250 ml CHCl₃/Aceton 97:3, 94:6, 90:10, 80:20. Bei 10% Acetonzusatz wurde Verbindung 3 erhalten, bei steigender Acetonkonzentration 4a. Es wurden isoliert: (Die Ausbeuten sind auf 1 bezogen) 173 mg (21%) 3, Schmp.: 183-183.5° (Essigester) (Lit.: Schmp.²⁹ 181-2° und³ 179-180°); R_f-Wert 0.16. 91 mg (11%) Gemisch von 3 und 4a, 275 mg (34%) 4a Schmp.: 194-196° (Aceton) (Lit. Schmp.:³ 195-197°); R_f-Wert 0.24; Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25.

3 β , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (5a) aus 3 β , 12 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3). 54 mg 3 wurden bei 0° in 20 ml Methanol gelöst und mit 20 mg NaBH₄ versetzt.⁷ Nach 2 1/2 Stunden Stehen bei 0° wurde mit Wasser verdünnt, mit Essigester extrahiert und neutral gewaschen. Reinigung durch präparative DC: Laufmittel CHCl₃/Aceton 60:40. 27 mg (50%) 5a Schmp.: 237-238° (Lit. Schmp.:³⁰ 226-233°); R_f-Wert 0.17; Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25 2x gelaufen.

3 β , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (6a) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a). 37 mg 4a wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 20 ml NaBH₄ versetzt.⁷ Reaktionsdauer und Reinigung wie oben. 24 mg (65%) 6a Schmp.: 219-221°; R_f-Wert 0.12; Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25 2x gelaufen. MS (hochaufgelöst): C₁₉H₃₂O₃, Gef: 308-2349; Ber: 308-2351.

12 α , 17 β - Dihydroxy - 5 β - androstan - 3 - on (13) und 12 α - Hydroxy - 5 β - androstan - 3, 17 - dion (14) aus 3 α , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (5a). 110 mg Triol 5a wurden zusammen mit 90 mg Aluminium-tert.-butylat in 6 ml abs. Toluol gelöst und nach Zusatz von 0.45 ml frisch destilliertem Cyclohexanon 4 Stunden unter Rückfluss gekocht.⁸ Nach dem Ansäuern wurde mit Essigester ausgeschüttelt, gewaschen und eingedampft. Als Rohprodukt fielen 139 mg eines zähen Öles an. Nach DC-Trennung wurde erhalten (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 95:5 bis 75:25): (a) 10 mg kristalline Ausgangsverbindung (5a); (b) 14 mg (13%) 7 Schmp.: 148-149° (Aceton); R_f-Wert 0.12; MS (hochaufgelöst): C₁₉H₃₀O₃, Gef: 306-2199; Ber: 306-2194; (c) 23 mg (21%) 9 Schmp.: 191-193° (Essigester); R_f-Wert 0.4; MS (hochaufgelöst): C₁₉H₂₈O₃, Gef: 304-2043; Ber: 304-2038; Laufmittel für anal. DC: CHCl₃/Aceton 75:25.

12 α - Hydroxy - 5 α - androstan - 3, 17 - dion (8) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a). 90 mg 4a und 74 mg Aluminium-tert.-butylat wurden in 4 ml abs. Toluol mit 0.3 ml frisch destilliertem Cyclohexanon 4 1/2 Stunden unter Rückfluss erhitzt.⁸ Nach dem Ansäuern und Ausschütteln mit Essigester wurde gewaschen und eingedampft. Der Rückstand wurde durch präparative DC getrennt (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 100:0, 95:5. 38 mg (42%) 12 α - Hydroxy - 5 α - androstan - 3, 17 - dion (8) wurden aus dem Kieselgel extrahiert. Schmp.: 190-191° (Essigester); R_f-Wert 0.4 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25); MS (hochaufgelöst): C₁₉H₂₈O₃, Gef: 304-2035; Ber: 304-2038.

12 α , 17 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 3 - on (10) aus 3 β , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (6a). 17 mg 6a wurden in 1 ml abs. Toluol gelöst und mit 15 mg Aluminium-tert.-butylat und 0.1 ml frisch destilliertem Cyclohexanon 5 Stunden unter Rückfluss erhitzt.^{8,10} Das Rohprodukt wurde durch DC getrennt und gereinigt (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 80:20). Folgende Verbindungen wurden isoliert: 5 mg 8 R_f-Wert 0.4 (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 75:25); 2 mg 10 R_f-Wert 0.2. Diese Verbindung kristallisierte nach DC-Reinigung nicht. MS (hochaufgelöst): C₁₉H₃₀O₃, Gef: 306-2196; Ber: 306-2194.

12 α , 17 β - Dihydroxy - 5 β - androstan - 3 - on (13) und 12 α - Hydroxy - 5 β - androstan - 3, 17 - dion (14) aus 3 α , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstan (12). Eine Lösung von 60 mg 12¹³ und 58 mg Aluminium-tert.-butylat in 3.8 ml abs. Toluol wurde mit 0.29 ml frisch destilliertem Cyclohexanon 4 1/2 Stunden unter Rückfluss erhitzt.⁸ Nach dem Aufarbeiten wurden 45 mg Rohprodukt erhalten, das durch DC getrennt wurde (Laufmittel: CHCl₃/Aceton 70:30). Es wurden isoliert: 15 mg (25%) 14, Schmp.: 187.5-189.5° (Lit. Schmp.:²⁷ 175.5-177.5°); R_f-

Wert 0.37 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 75:25); MS (hochaufgelöst): $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$, Gef: 304.2040; Ber: 304.2038. 6 mg (12%) 13 R_f -Wert 0.19, diese Substanz kristallisierte auch nach GC-Reinigung nicht. MS (hochaufgelöst): $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$, Gef: 306.2194; Ber: 306.2194.

12 β - Hydroxy - 5 β - androstan - 3, 17 - dion (20) aus 12 β - Hydroxy - 4 - androsten - 3, 17 - dion (19). Zu einer Lösung von 55 mg 19¹⁶ in 5.5 ml Dimethylformamid wurden 550 mg Pd-Katalysator (10% Pd auf CaCO_3) gegeben und 4 Stunden bei Raumtemperatur und unter Normaldruck hydriert.¹⁹ Mit DC wurde auf Vollständigkeit der Reaktion geprüft. Der Katalysator wurde abfiltriert, mit Essigester extrahiert und die vereinigten Lösungen am Wasserbad bei 70° im Vakuum eingedampft. Es wurden 51 mg Kristalle erhalten, die mittels DC getrennt wurden (Kieselgel H von der Fa. Merck, 0.25 mm Schichtdicke). Durch Anlaufen in Aceton wurde die Probe zu einer möglichst schmalen Startzone zusammengedrängt und so die Trennleistung verbessert, die Platten wurden anschließend im Trockenschrank bei 70° 8 Stunden getrocknet (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Äther}$ 100:0, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50).

Es wurden 18 mg (33%) 20 und 21 mg 5 α -Isomeres 9 isoliert. Eine kleine Probe 20 wurde durch GC weiter gereinigt, davon wurden Schmp. und Massenspektrum bestimmt. Schmp.: 147–150°; R_f -Wert 0.5 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 75:25); MS (hochaufgelöst): $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$, Gef: 304.2035; Ber: 304.2038.

3 α , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 β - androstan (21) aus 12 β - Hydroxy - 5 β - androstan - 3, 17 - dion (20). Durch eine Lösung von 12 mg 20 in 9 ml Methanol wurde trockener Stickstoff geblasen. Dazu wurde bei 0° eine Mischung von 3 ml Methanol, 0.1 ml 2.5 n NaOH und eine Pyridinlösung mit NaBH_4 (2.8 ml 0.18 m) gegeben. Nach 10 Minuten wurde im Überschuss verd. Salzsäure hinzugefügt. Dann wurde mit Essigester ausgeschüttelt und mit verd. NaOH und mit Wasser gewaschen. Nach dem Eindampfen wurde durch DC (Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 80:20 bis 40:60, Kieselgel H) gereinigt. Anschließend wurde durch GC weiter aufgetrennt. Neben 2 mg Ausgangsmaterial 20 wurden 6 mg (50%) 23 isoliert Schmp.: 212–214°; R_f -Wert 0.5 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 40:60, 3x gelaufen); MS (hochaufgelöst): $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_3$, Gef: 308.2353; Ber: 308.2351.

3 α , 12 α , 20 - Triacetoxo - 5 β - 17 - pregnen (15) aus 3 α , 12 α - Diacetoxo - 5 β - pregnan - 20 - on (11). 500 mg 11 wurden in 2.5 ml CCl_4 gelöst und mit einer Lösung von 1.7 ml 60%iger HClO_4 in 20 ml Essigsäureanhydrid behandelt.¹⁷ Nach Stehen über Nacht wurden 728 mg eines Öles erhalten, das zu über 90% aus 15 bestand (DC-Analyse, Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 75:25). R_f -Wert: 0.6, (violette Farbe mit dem Sprühreagenz) R_f -Wert von 11: 0.65 (gelbgrün). Das Rohprodukt wurde ohne weitere Behandlung zur Epoxidierung eingesetzt.

3 α , 12 α , 20 - Triacetoxo - 5 β - pregnan - 17 α :20 - epoxid (16) aus 3 α , 12 α , 20 - Triacetoxo - 5 β - 17 - pregnen (15). Das rohe Enolacetat (15) wurde in 1 ml CHCl_3 aufgenommen. Nach Versetzen mit 6 ml einer Lösung von Monoperphthalsäure in Äther (1.5 n) wurde bei Raumtemperatur 40 Stunden stehen gelassen,¹⁷ anschließend mit 5%iger NaOH und Wasser gewaschen und aufgearbeitet. Es wurden 600 mg Rohprodukt isoliert. R_f -Wert 0.4 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 75:25).

3 α , 12 α , 17 α , 20 - Tetrahydroxy - 5 β - pregnan (17) aus 3 α , 12 α , 20 - Triacetoxo - 5 β - pregnan - 17 α :20 - epoxid (16). 500 mg rohes Epoxid 16 wurden in 50 ml abs. THF gelöst und zu einer Suspension von 100 mg LiAlH_4 in

100 ml abs. THF getropft. 1 1/2 Stunden wurde unter Rückfluss erhitzt, dann im Eisbad gekühlt, mit 3 ml Essigester versetzt und mit Eiswasser hydrolysiert. Das Aluminiumhydroxyd wurde abgenutscht und im Soxhlet mit THF extrahiert. Nach Eindampfen der vereinigten Extrakte und Filtrate fielen 500 mg eines farblosen Öles an, in dem 17 als Hauptbestandteil enthalten war (DC-Analyse). R_f -Wert 0.15 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 60:40).

3 α , 12 α - Dihydroxy - 5 β - androstan - 17 - on (18) aus 3 α , 12 α , 17 α , 20 - Tetrahydroxy - 5 β - pregnan (17). Zu einer Lösung von 500 mg 17 in 30 ml Methanol wurde eine Lösung von 800 mg Perjodsäure in 6 ml Wasser bei Raumtemperatur hinzugefügt.⁶ Nach 24 Stunden wurde auf das doppelte Volumen mit Wasser verdünnt, das Methanol abdestilliert und mit Essigester extrahiert. Der gewaschene, eingedampfte Extrakt erbrachte 276 mg gelbliches Rohprodukt. Getrennt und gereinigt wurde durch DC (Laufmittelgemisch: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 60:40). Es wurden 95 mg 18 (26%, bezogen auf 11) isoliert. 66 mg Reinprodukt 18 (aus Aceton); Schmp. und Massenspektrum wurden von einer durch G.C. gereinigten Probe bestimmt. Schmp.: 149/161–163° (Lit.:²⁸ 144/163–164° und²⁷ 165.5–168°); R_f -Wert 0.17 (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 70:30).

16, 16 - d₂ - 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4b) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a). 1 mg 4a in 10 ml CH_3OD wurde mit einer Lösung von 1 ml D_2O , dem man eine Spatelspitze PCl_5 zugefügt hatte, versetzt.³² Nach 48-stündigem Kochen unter Rückfluss (Ausschluss von Luftfeuchtigkeit) wurde mit Pyridin alkalisiert, mit Äther verdünnt und mit Wasser gewaschen. Der Eindampfrückstand wurde im Massenspektrometer untersucht.

17 α - d₁ - 3 β , 12 β , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (5b) aus 3 β , 12 β - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (3). 2 mg 3 wurden in 20 ml abs. THF gelöst und mit 50 mg LiAlD_4 versetzt.⁹ Nach 3-stündigem Kochen am Rückfluss und Hydrolysisen wurde das Rohprodukt im Massenspektrometer untersucht. Auf diese Weise wurde auch 17 α - d₁ - 3 β , 12 α , 17 β - Trihydroxy - 5 α - androstan (6b) aus 3 β , 12 α - Dihydroxy - 5 α - androstan - 17 - on (4a) dargestellt.

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

LITERATUR

- ¹X. Mitt, J. Jovanovic und G. Spittler, *Tetrahedron* (1973); im Druck
- ²R. B. Wagner, J. A. Moore und R. F. Forker, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 1856 (1950)
- ³M. E. Wall, H. E. Kenney und E. S. Ruthman, *Ibid.* **77**, 5665 (1955)
- ⁴A. F. B. Cameron, R. M. Evans, J. C. Hamlet, J. S. Hunt, P. G. Jones und A. G. Long, *J. Chem. Soc.* 2807 (1955)
- ⁵W. J. Adams, D. N. Kirk, D. K. Patel, V. Petrow und I. A. Stuart-Webb, *Ibid.* 2209 (1954)
- ⁶T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **20**, 978 (1937)
- ⁷E. Elisberg, H. Vanderhaeghe und T. F. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 2814 (1952)
- ⁸B. Riegel und A. V. McIntosh, Jr., *Ibid.* **66**, 1099 (1944)
- ⁹Ph. E. Shaw, *J. Org. Chem.* **31**, 2116 (1966)

- ¹⁰I. E. Bush, *The Chromatography of Steroids*, Pergamon Press, Oxford, S. 358 (1961)
- ¹¹W. M. Hoehn und H. L. Mason, *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 1493 (1938)
- ¹²H. Morsman, M. Steiger und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **20**, 3 (1937)
- ¹³Ch. Meystre, L. Ehman, R. Neher und K. Miescher, *Ibid.* **28**, 1252 (1945)
- ¹⁴Ch. Meystre, H. Frey, A. Wettstein und K. Miescher, *Ibid.* **27**, 1815 (1944)
- ¹⁵L. H. Sarett, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 2899 (1947)
- ¹⁶T. R. Carrington, A. G. Long und A. F. Turner, *J. Chem. Soc.* 1572 (1962)
- ¹⁷D. H. R. Barton, R. M. Evans, J. C. Hamlet, P. G. Jones und T. Walker, *Ibid.* 747 (1954)
- ¹⁸Für die Überlassung dieser Substanz danken wir der Schering AG, Berlin
- ¹⁹M. G. Combe, H. B. Henbest und W. R. Jackson, *J. Chem. Soc.* 2467 (1967)
- ²⁰H. Egger und G. Spiteller, *Mh. Chem.* **97**, 579 (1966)
- ²¹H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Tetrahedron* **27**, 1093 (1971)
- ²²B. Stock und G. Spiteller, unveröffentlicht
- ²³H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1430 (1962)
- ²⁴G. Jones und C. Djerassi, *Steroids* **10**, 653 (1967)
- ²⁵L. Tökés, R. T. LaLonde und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **32**, 1012 (1967)
- ²⁶M. Ende und G. Spiteller, unveröffentlicht
- ²⁷H. Reich, *Helv. Chim. Acta* **28**, 863 (1945)
- ²⁸W. J. Adams, D. K. Patel, V. Petrow und I. A. Stuart-Webb, *J. Chem. Soc.* 1825 (1954)
- ²⁹T. Nambara, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **12**, 1253 (1964)
- ³⁰S. Noguchi und D. K. Fukushima, *J. Org. Chem.* **30**, 3552 (1965)
- ³¹K. Randerath, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1962)
- ³²J. Seibl und T. Gäumann, *Helv. Chim. Acta* **46**, 2857 (1963)