

DARSTELLUNG VON SPEZIFISCH DEUTERIUM-MARKIERTEN ANALOGEN DES ANDROST-5-EN-3 β -OL

W. OCKELS und H. BUDZIKIEWICZ

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln, 5 Köln 41, Greinstrasse 4, Germany

(Received in Germany 2 May 1975; Received in the UK for publication 18 August 1975)

Abstract—The synthesis of specifically deuterium labelled analogs of androst-5-en-3 β -ol is described.

Zusammenfassung—Die Darstellung spezifisch deuterium-markierter Analogger von Androst-5-en-3 β -ol wird beschrieben.

IN DIESER Arbeit soll die Synthese von spezifisch D-markierten Analogen des Androst-5-en-3 β -ol beschrieben werden. Die Darstellungswege sind so ausgelegt, dass Deuterium spezifisch und möglichst quantitativ eingebaut wird und dass in den nachfolgenden Schritten kein (teilweiser oder vollständiger) Verlust und keine D-Wanderung eintritt. Dies macht in einigen Fällen vielstufige Synthesen und entsprechende Umwege notwendig. Die ausgearbeiteten Synthesewege—auch wenn sie zum Grossteil aus bekannten Reaktionsstufen zusammengesetzt sind—sind gleichfalls für die Markierung mit radioaktivem Material von Interesse, da sie in den meisten Fällen mit geringem Substanzaufwand durchgeführt werden können.

Die Formelschemata geben die Reaktionsfolgen für die einzelnen markierten Verbindungen wieder (die Zahlen in den Schemata beziehen sich auf die entsprechenden Literaturstellen, s. Exp. Teil), die Charakterisierung der einzelnen Stufen ergibt sich aus dem Experimentellen Teil. Die Massenspektren der markierten Androstenole sind in der begleitenden Arbeit⁶ beschrieben.

EXPERIMENTELLER TEIL

Säulen- und Dünnschichtchromatographie

Für analytische Zwecke wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator der Fa. Riedel-de-Haen SIF und der Fa. Merck F-254 benutzt. Die Flecken waren zum Teil im kurzwelligen UV-Licht sichtbar. Ansonsten wurden die Platten mit einer Lösung von Cer(IV)-sulfat in 65%iger Schwefelsäure¹ angesprüht. Nach 5-minütigem Entwickeln im Trockenschrank bei 120°C wurden farbige Flecken sichtbar. Zur präparativen Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Fertigplatten mit Fluoreszenzindikator der Fa. Merck F-254/366 im Format 20 × 20 cm verwendet. Ein Teil der Substanzen wurde auf selbstbeschichteten AgNO₃-Platten 20 × 20 cm chromatographiert. Die Beschichtung bestand aus Kieselgel H nach Stahl (Merck) und 10% AgNO₃. Die Schichtdicke betrug 0.5 mm. Die Platten wurden im Trockenschrank bei 120°C 2 h aktiviert. Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (0.040–0.063 mm) der Fa. Merck durchgeführt. Die Laufmittel bestanden, wenn nicht anders angegeben, aus einer Mischung von Chloroform und Essigester, deren Mischungsverhältnis je nach Polarität der Proben zwischen 1:1 und 20:1 variierte.

Charakterisierung der dargestellten Verbindungen

Fließpunkte wurden mit Hilfe eines Kofler-Heizblocks ermittelt und sind nicht korrigiert. NMR-Spektren wurden mit einem NMR-Spektrometer Varian A60 (CDCl₃ mit TMS als Standard) vermessen. Die berechneten Werte für die Methylverschiebungen der Steroide entstammen den Zürcher-Tabellen.² UV-Spektren

wurden mit einem Spektrometer Perkin-Elmer 137UV (95% Äthanol) aufgenommen. Massenspektren wurden mit dem Gerät Varian MAT 731 (Direkteinführung, Probestemp. bei Androsteno- len 50–70°C, bei den übrigen Steroiden 85–100°C, Quellen-temp. 250°C; 100 eV) aufgenommen, die Summenformeln durch exakte Massenmessungen bestimmt.

Androst-5-en-3 β -ol (1a). 14.4 g Androst-5-en-3 β -ol-17-on (2), 11 g KOH und 9 g 85%iges Hydrazin-Hydrat werden in 100 ml Diäthylenglykol gelöst und 1 h am Rückfluss bei 140°C gehalten. Daraufhin lässt man Wasser und überschüssiges Hydrazin abdampfen, bis die Temperatur ca. 200°C beträgt, kocht weitere 2 h unter Rückfluss, versetzt nach dem Abkühlen mit Wasser und filtriert ab. Der Niederschlag wird alkalifrei gewaschen und aus einem Gemisch von Essigester, Methanol und wenig Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 95% = 13 g. F.p.: 135–6°C (Lit.³: 136–7°C); NMR: 18-H 0.733 ppm (Ber. 0.734), 19-H 1.025 ppm (Ber. 1.033), 6-H 5.334 ppm.

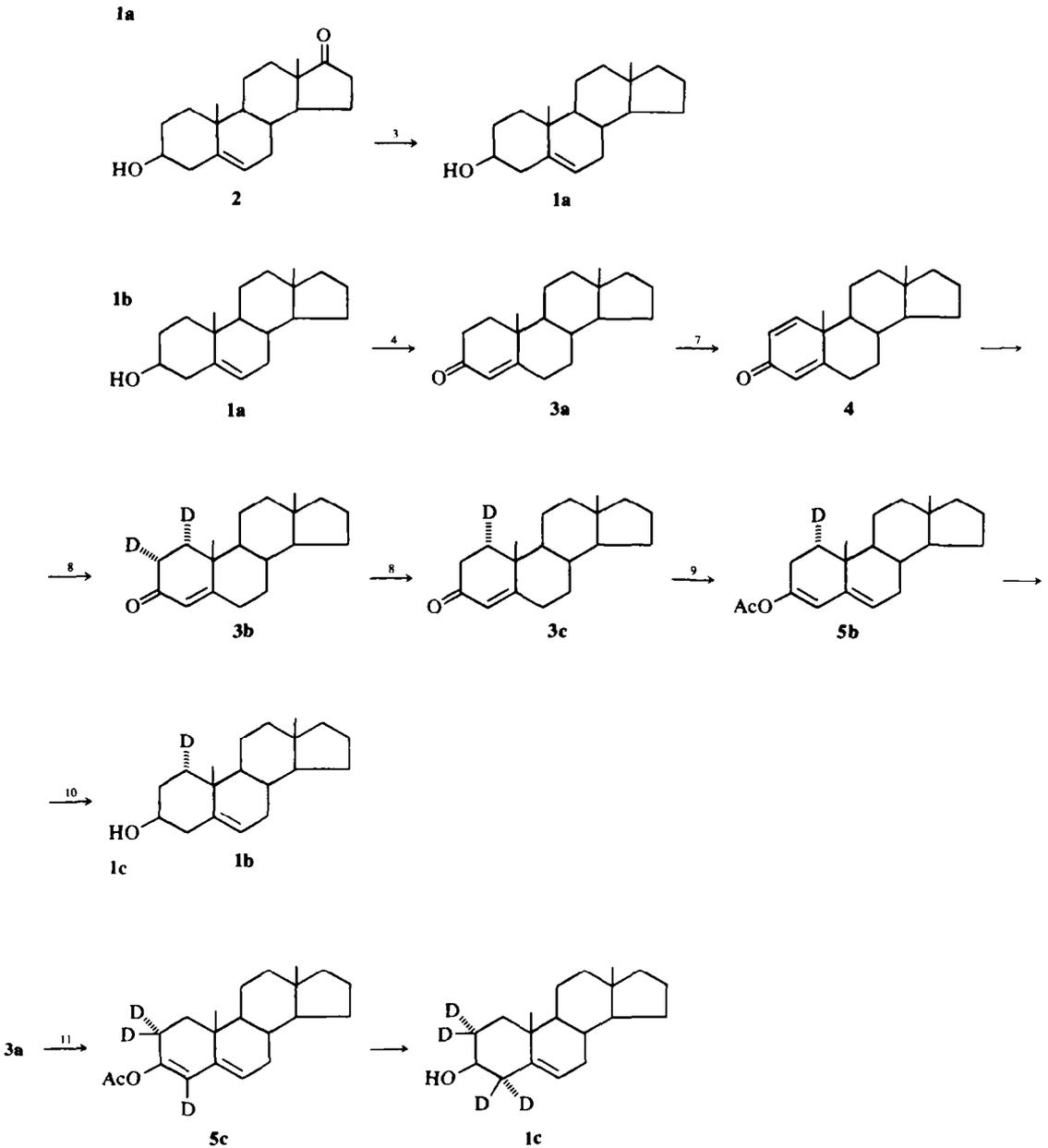
Androst-4-en-3-on (3a). Diese Verbindung wurde durch Oxidation von 2 (5 g) analog der Vorschrift von Oppenauer⁴ für die Darstellung des Cholest-4-en-3-on hergestellt. Ausbeute: 75% = 3.7 g. F.p.: 101°C (Lit.⁵: 104–5°C); UV: λ_{max} 241 m μ (Lit.⁵: 242 m μ); MS: M⁺ = 272, charakteristisches Fragment⁶ m/e 124.

Androst-1,4-dien-3-on (4). 3 g 3a, 1 g SeO₂, 60 ml tert.-Butanol und 0.6 ml Essigsäure werden unter Stickstoff 8 h auf 70°C erhitzt.⁷ Nach Zusatz von 1 g SeO₂ wird die Mischung weitere 16 h bei 70°C gehalten. Nach der üblichen Aufarbeitung wird das Rohprodukt an 200 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 6:1 chromatographiert. Man erhält 1.3 g (43%) nicht ganz einheitliche Substanz, die für die nächste Stufe ohne weitere Reinigung verwendet wurde. MS: M⁺ = m/e 270; UV: λ_{max} 243 m μ .

1 α -d₁-Androst-4-en-3-on (3c). 1.3 g rohes 4 werden in 250 ml Äthanol/Benzol 1:1 gelöst, welches 1.15 g Tris(triphenylphosphin)-rhodiumchlorid enthält.⁸ Der Kolben wird nach Evakuieren und Spülen mit N₂ über eine Hydrierapparatur mit Deuterium beschickt. Es werden ca. 120 ml D₂ aufgenommen. Nach 20 h dampft man zur Trockene ein, nimmt in Petroläther/CH₂Cl₂ auf und filtriert über Al₂O₃. Das rohe 1 α ,2 α -d₂-Androst-4-en-3-on (3b) wird in 80 ml Äthanol gelöst und nach Zugabe von Na-Athylat 12 h unter N₂ am Rückfluss gekocht. Nach üblicher Aufarbeitung wird das rohe 3c an 100 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 10:1 als Laufmittel chromatographiert. Ausbeute: 40% = 500 mg. F.p.: 103°C (Lit.⁵ (d₀): 104–5°C); DC: Identisch mit 3a.

1 α -d₁-Androsta-3,5-dien-3-ol-acetat (5b). 500 mg 3b wird nach der Methode von Westphal⁹ ins Enolacetat 5b überführt, das ohne weitere Reinigung zur Reduktion eingesetzt wird. DC: Identisch mit authentischem d₀-Androsta-3,5-dien-3-ol-acetat.

1 α -d₁-Androst-5-en-3 β -ol (1b). 5b wird nach Belleau und Gallagher¹⁰ mit NaBH₄ zu 1b reduziert. Das Produkt wird zweimal über Kieselgelplatten (10% AgNO₃) chromatographiert (Laufmittel CHCl₃/Essigester 9:1). Diese Reinigung wurde nur für eine kleine Probe durchgeführt, so dass die Ausbeute nicht bestimmt wurde. F.p.: 136°C (Lit.¹ (d₀): 136–7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopen-



zusammensetzung: Durch eine nur schwer quantitativ abtrennbare Verunreinigung mit Hydrierungsprodukt ist die Isotopenzusammensetzung nicht genau zu ermitteln. Der d_1 -Anteil liegt unter Berücksichtigung des Hydrierungsproduktes bei ca. 90%.

2,2,4- d_3 -Androsta-3,5-dien-3-ol-acetat (5c). 200 mg **3a** werden unter N_2 mit 500 mg *K-tert.*-Butanolat in 5 ml *tert.*-Butanol-Od, 24 h gerührt. Dann gibt man 1 ml Acetanhydrid zu und rührt weitere 2 h.¹¹ Nach üblicher Aufarbeitung erhält man rohes **5c** als gelbes Öl, welches für die nächsten Stufen eingesetzt wurde. DC: Identisch mit d_0 -Androsta-3,5-dien-3-ol-acetat.

2,2,4,4- d_4 -Androst-5-en-3 β -ol (1c). 20 mg rohes **5c** werden in 5 ml CH_3OD gelöst, unter Eiskühlung mit einer Lösung von 60 mg $NaBH_4$ in 5 ml CH_3OD + 0.5 ml D_2O versetzt, bei Raumtemperatur 12 h stehen gelassen und schliesslich mit 1 ml konz. HCl angesäuert. Nach weiteren 12 h bei Raumtemp. arbeitet man wie üblich auf und chromatographiert auf einer Fertigplatte mit $CHCl_3$ /Essigester 2:1. Ausbeute: 46% = 8 mg. F.p.: 136°C (Lit.³ (d_0): 136–7°C). DC: Identisch mit **1a**. Isotopenzusammensetzung: d_0 : 5.1%, d_1 : 2.6%, d_2 : 9.5%, d_3 : 27.6%, d_4 : 39.6%, d_5 : 15.0%.

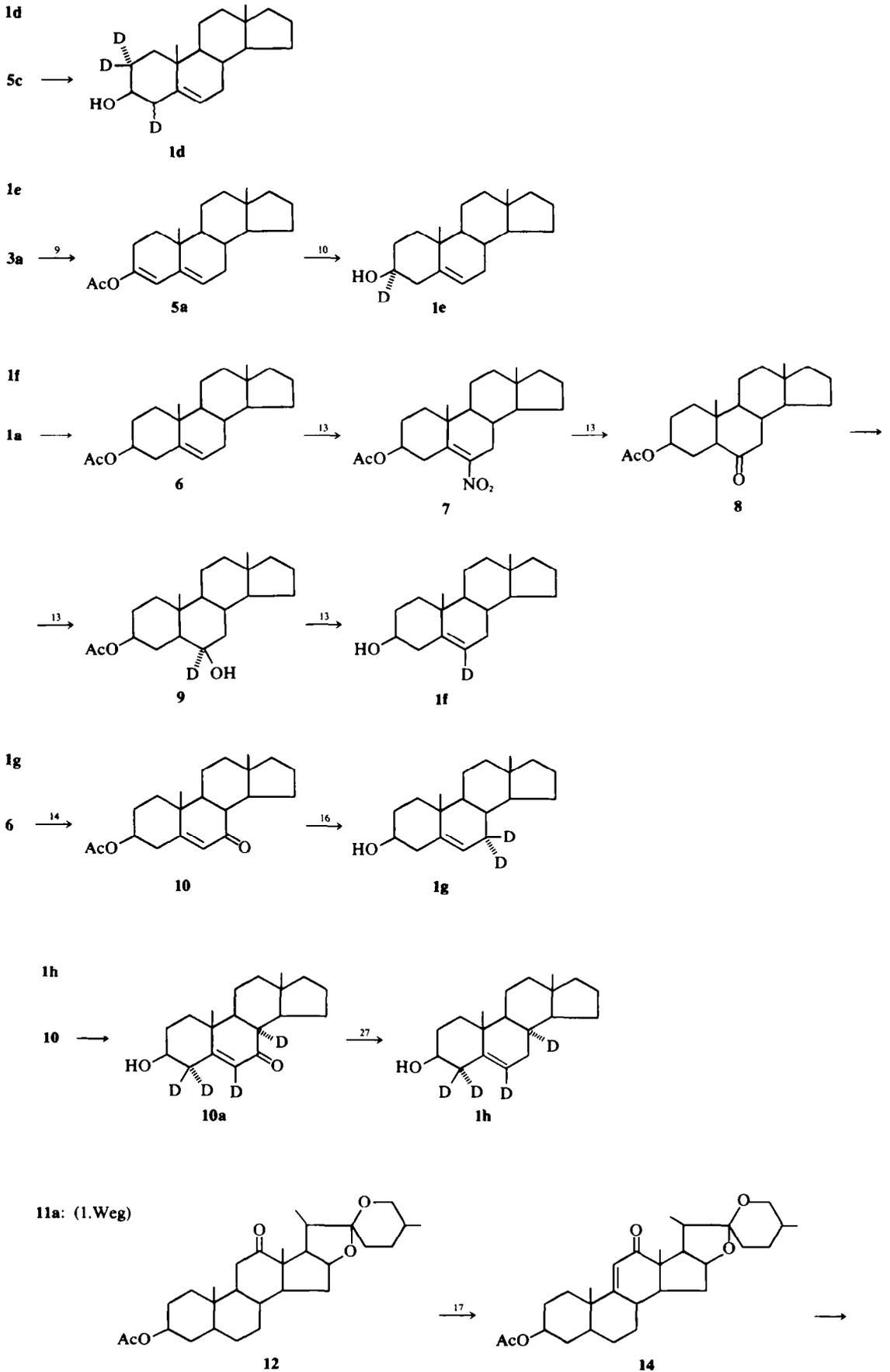
2,2,4 ξ - d_3 -Androst-5-en-3 β -ol (1d). 20 mg **5c** werden unter

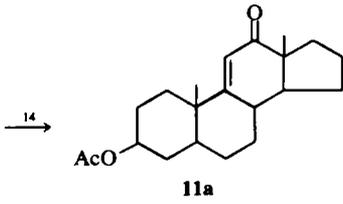
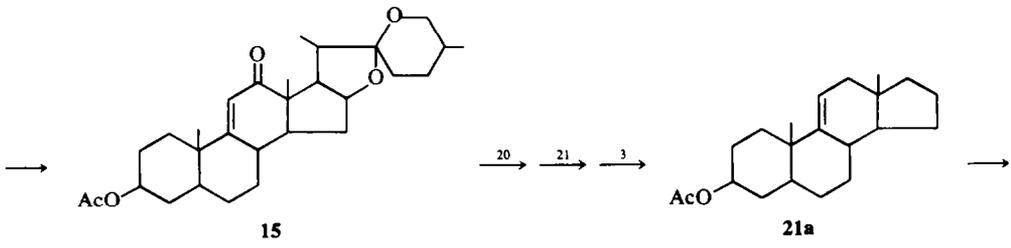
Verwendung von nicht deuterierten Lösungsmitteln wie für **1c** beschrieben reduziert. Ausbeute: 51% = 9 mg. F.p.: 137°C (Lit.³ (d_0): 136–7°C). DC: Identisch mit **1a**. Isotopenzusammensetzung: d_0 : 3.4%, d_1 : 11.4%, d_2 : 37.1%, d_3 : 46.4%, d_4 : 1.6%.

3 α - d_1 -Androst-5-en-3 β -ol (1e). 200 mg **3a** werden nach Westphal⁹ ins Enolacetat (**5**) übergeführt und nach Belleau und Gallagher¹⁰ unter Verwendung von $NaBD_4$ zu **1e** reduziert. Eine kleine Probe des Rohproduktes wird an einer Kieselgelplatte mit $CHCl_3$ /Essigester 2:1 chromatographiert. F.p.: 138°C (Lit.³ (d_0): 136–7°C). DC: Identisch mit **1a**. Isotopenzusammensetzung: d_0 : 14.1%, d_1 : 80.6%, d_2 : 3.0%, d_3 : 2.3%.

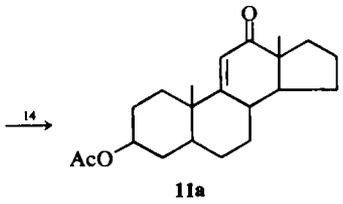
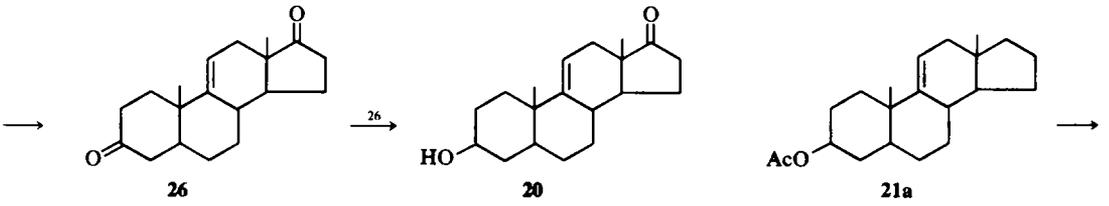
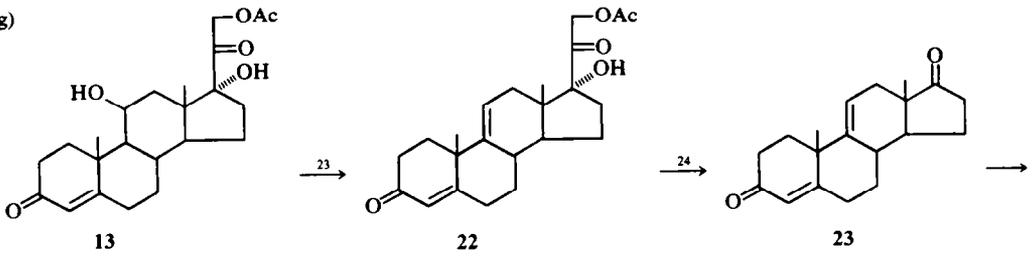
Androst-5-en-3 β -ol-acetat (6). 1.5 g **1a** lässt man mit 1 ml Acetanhydrid und 1.5 ml Pyridin 12 h bei Raumtemp. stehen. Nach üblicher Aufarbeitung kristallisiert man aus Äthanol/Wasser um. Ausbeute: 90% = 1.5 g. F.P.: 97–8°C (Lit.¹²: 91–93°C). NMR: 18-H 0.733 ppm (Ber. 0.734), 19-H 1.033 ppm (Ber. 1.042), 6-H 5.383 ppm. MS: kein M^+ , M^+ -AcOH = m/e 256.

6-Nitro-androst-5-en-3 β -ol-acetat (7). 1 g **6** wird nach Gardi und Pedrali¹³ zu **7** umgesetzt. Das Rohprodukt wird an 80 g Kieselgel mit CCl_4 /Essigester 2:1 chromatographiert. Ausbeute:

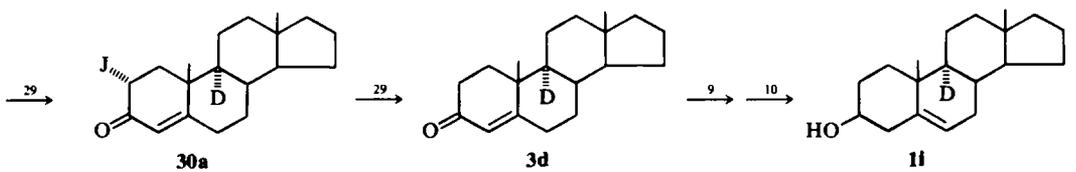
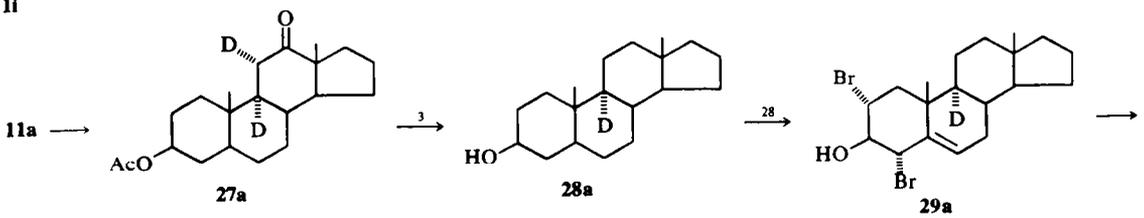


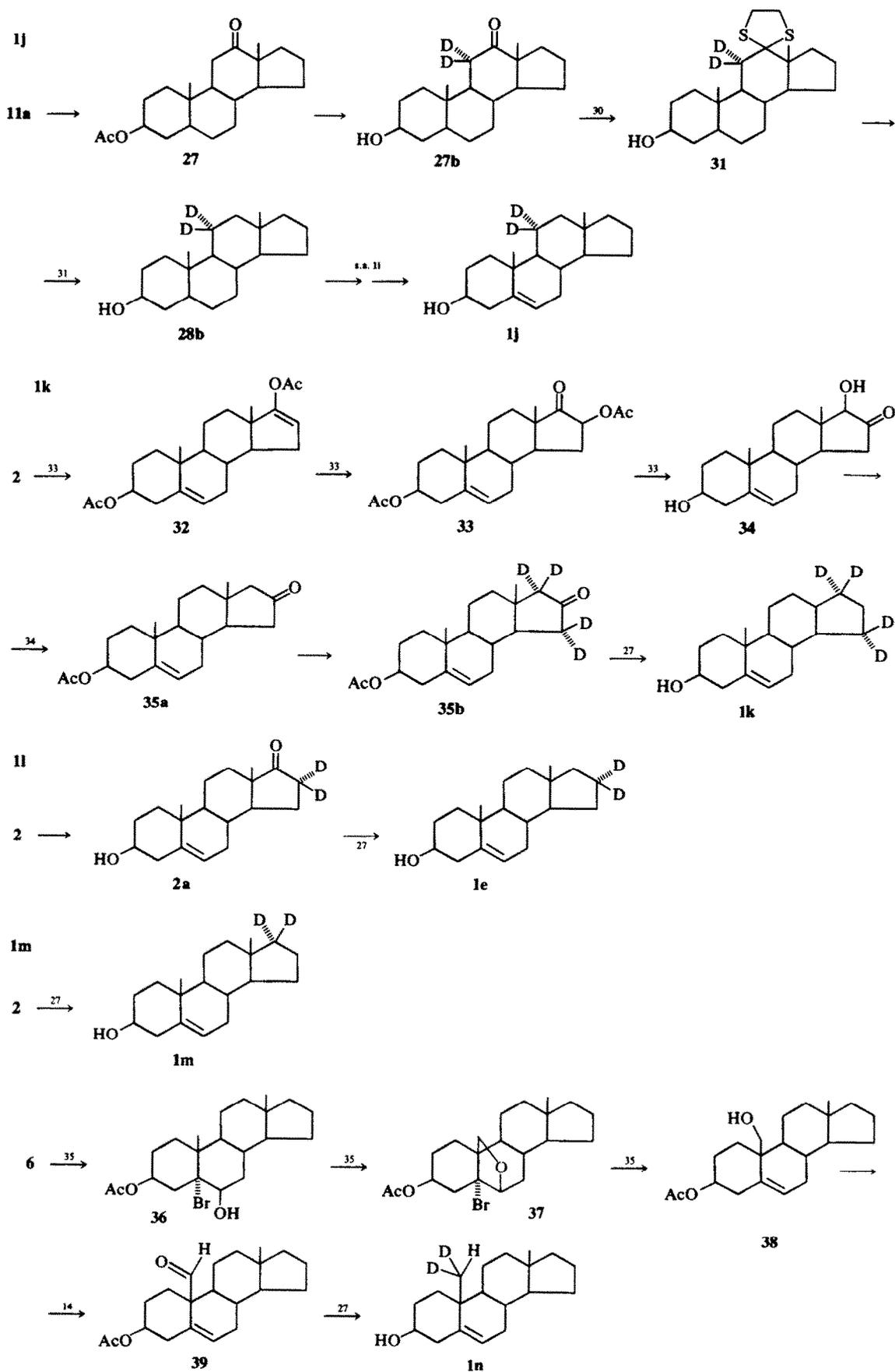


11a: (2.Weg)



ii





40% = 440 mg (hellgelb). F.p.: 150–1°C. NMR: 18-H 0.742 ppm, 19-H 1.158 ppm, AcO– 2.033 ppm. MS: $M^+ = m/e$ 361 (geringe Int.), $M^+ - 43$ (CH₃CO), $M^+ - 60$ (AcOH), $M^+ - 43 - 30$ (CH₃CO, NO), $M^+ - 60 - 30$ (AcOH, NO), m/e 244, m/e 217.

6 α -d₁-5-Androstan-3 β ,6 β -diol-3-acetat (9). 440 mg 7 werden wie beschrieben¹⁰ mit 1 g Zn-Pulver in 40 ml Essigsäure zum 5 α -Androstan-3 β -ol-6-on-3-acetat (8) reduziert. Das Rohprodukt wird¹³ mit NaBD₂ in THF/D₂O zu 9 umgesetzt, das ohne weitere Reinigung für die nächste Stufe eingesetzt wird.

6-d₁-Androst-5-en-3 β -ol (1f). Das rohe Diol 9 wird wie beschrieben¹³ mit 2 ml POCl₃ und 10 ml Pyridin in 6-d₁-Androst-5-en-3 β -ol-acetat überführt, welches nach Aufarbeitung durch Stehenlassen mit 10 ml 5%iger methanolischer KOH zu 1f verseift wird. Das Rohprodukt wird an 40 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 2:1 chromatographiert. Ausbeute (über 3 Stufen): 25% = 85 mg. F.p.: 137°C (Lit.⁷ (d₀): 136–7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 5.5%, d₁: 86.3%, d₂: 8.1%.

Androst-5-en-3 β -ol-7-on-3-acetat (10). Zu einer Mischung von 3 g abs. Pyridin und 50 ml abs. CH₂Cl₂ gibt man 1.9 g über P₂O₅ getrocknetes CrO₃ und lässt 15 Min rühren. Die Lösung muss eine tiefdunkelrote Färbung annehmen.¹⁴ Zu dieser Lösung gibt man in einem Guss eine Lösung von 1 g 6 in 10 ml CH₂Cl₂, wobei ein schwarzer, teeriger Niederschlag entsteht. Man lässt 24 h bei Raumtemp. rühren, dekantiert und wäscht den Niederschlag mit Äther. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 5%iger NaOH, 5%iger HCl, 5%iger NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet. Analytische DC zeigte, dass noch Ausgangsmaterial vorhanden war. Dieses wird durch Chromatographie an 80 g Kieselgel mit CHCl₃ als Laufmittel abgetrennt. Umkristallisieren aus Athanol ergibt reines 10. Ausbeute: 60% = 625 mg. F.p.: 184°C (Lit.¹⁵: 179–180°C). UV: λ_{max} : 234 m μ (Lit.¹⁵: 234 m μ). MS: $M^+ = m/e$ 330 (geringe Int.), $M^+ - AcOH = m/e$ 270. $M^+ - AcOH - CH_3 = m/e$ 255.

7,7-d₂-Androst-5-en-3 β -ol (1g). Zu einer Aufschlammung von 285 mg LiAlD₄ in 25 ml abs. Äther gibt man eine Lösung von 220 mg 10 und 360 mg wasserfreies AlCl₃ in 25 ml abs. Äther. Die Mischung wird 1 h am Rückfluss gekocht.¹⁶ Nach üblicher Aufarbeitung wird das Rohprodukt an 25 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 4:1 chromatographiert. Ausbeute: 14% = 25 mg. F.p.: 140°C (Lit.⁷ (d₀): 136–7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 7.3%, d₁: 4.8%, d₂: 85.5%, d₃: 2.4%.

9(11)-Dehydro-hecogenin-acetat (14). 23.6 g Hecogenin-acetat (12) und 13.2 g SeO₂ werden in 11 tert.-Butanol gelöst und mit 4 ml Pyridin versetzt.¹⁷ Man erhitzt 96 h am Rückfluss, gibt nach dem Abkühlen etwas Äthanol zu und filtriert durch Kieselgur. Nach Abziehen des Lösungsmittels *i. Vak.* wird aus Äthanol umkristallisiert. Ausbeute: 85% = 20 g. F.p.: 217–220°C (Lit.¹⁸: 218–220°C). NMR: 18-H 0.933 ppm (Ber.[†] 0.933), 19-H 1.108 ppm (Ber.[†] 1.117), 11-H 5.733 ppm, AcO– 2.033 ppm; MS: $M^+ = m/e$ 470, m/e 139, 341, 356, 398, 411 (charakteristische Fragmente);¹⁹ UV: λ_{max} : 238 m μ (Lit.¹⁸: 238 m μ).

9(11)-Dehydro-tigogenin (15). Eine Lösung von 10 g 14 und 7.5 g 85%igem Hydrazinhydrat in 300 ml Diäthylenglykol¹ erhitzt man 0.5 h auf ca. 130°C, lässt dann vorsichtig eine Lösung von 15 g KOH in wenig Wasser zutropfen und so lange Wasser und überschüssiges Hydrazinhydrat abdampfen, bis die Temperatur auf ca. 200°C angestiegen ist. Nach 2 h lässt man abkühlen und verdünnt mit Wasser. Der Niederschlag wird abgesaugt, gut ausgewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Ausbeute: 92% = 16.2 g. F.p.: 187–190°C. NMR: 18-H 0.708 ppm (Ber.[†] 0.700), 19-H 0.950 ppm (Ber.[†] 0.975), 11-H 5.300 ppm.

5 α -Pregna-9(11),16-dien-3 β -ol-20-on-3-acetat (18). 16 g 15 werden nach einer der bekannten Abbaumethoden²⁰ ohne

Reinigung der Zwischenstufen bis zu 18 abgebaut. Das Rohprodukt wird für die nächste Stufe eingesetzt.

5 α -Androst-9(11)-en-3 β -ol-17-on (20). 6 g rohes 18 werden durch Beckmann-Umlagerung²¹ zu 20 umgesetzt. Ausbeute (über 6 Stufen): 35% = 3.4 g. F.p.: 169–171°C. NMR: 18-H 0.825 ppm (Ber. 0.800), 19-H 0.983 ppm (Ber. 0.983), 11-H 5.383 ppm; MS: $M^+ = m/e$ 330.

5 α -Androst-9(11)-en-3 β -ol-acetat (21a). 3.4 g 20 werden zusammen mit 2.5 g 85%igem Hydrazinhydrat und 3 g KOH auf ca. 200°C erhitzt. Nach 2 h lässt man abkühlen, verdünnt mit Wasser und extrahiert mehrfach mit Äther. Nach Waschen und Trocknen der organischen Phasen wird das Lösungsmittel *i. Vak.* abgezogen. Zum Rückstand gibt man 5 ml Pyridin und 5 ml Acetanhydrid und lässt bei Raumtemp. 12 h stehen. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man 21a. Ausbeute: 90% = 3.4 g. F.p.: 70–73°C (Lit.¹⁷: 72.5–74°C). NMR: 18-H 0.642 ppm (Ber. 0.633), 19-H 0.967 ppm (Ber. 0.983), 11-H 5.383 ppm; MS: $M^+ = m/e$ 316 (geringe Int.), $M^+ - AcOH = m/e$ 256.

5 α -Androst-9(11)-en-3 β -ol-12-on-3-acetat (11a). 3 g 21a werden wie für 10 beschrieben oxidiert. Ausbeute: 47% = 1.5 g. F.p.: 97°C (Lit.²²: 89–94°C). NMR (in CCl₄): 18-H 0.867 ppm (Ber.[†] 0.867), 19-H 1.100 ppm (Ber. 1.108), 11-H 5.567 ppm, AcO– 1.933 ppm; MS: $M^+ = m/e$ 330, $M^+ - 15$, $M^+ - 17$, m/e 287, 273, 255, 248, 147 (100%); UV: λ_{max} : 238 m μ (Lit.²²: 238 m μ).

Pregna-4,9(11)-dien-17 α ,21-diol-3,20-dion-21-acetat (22). 10 g Hydrocortisonacetat (13) werden in 150 ml Dioxan, 20 ml Collidin und 60 ml DMF gelöst und auf 10°C gekühlt und unter Rühren mit 6 ml Methansulfonsäurechlorid, welches vorher mit SO₂ gesättigt wurde, versetzt. Man lässt 30 Min rühren.²³ Während dieser Zeit trübt sich die Lösung und nimmt eine gelbliche Färbung an. Anschließend gibt man 10 ml Wasser zu und dampft *i. Vak.* weitgehend ein. Der Rückstand wird in CHCl₃ aufgenommen und mit Wasser mehrfach gewaschen. Das nach Abziehen des Lösungsmittels erhaltene Produkt wird aus Methanol/CHCl₃ umkristallisiert. Ausbeute: 90% = 8.6 g. F.p.: 236°C (Lit.²³: 237–240°C). NMR: 18-H 0.650 ppm (Ber. 0.658), 19-H 1.342 ppm (Ber. 1.342), 11-H 5.550 ppm, 4-H 5.717 ppm, AcO– 2.158 ppm.

Androsta-4,9(11)-dien-3,17-dion (23). 8.6 g 22 werden in 500 ml Methanol gelöst, mit einer Lösung von 4 g K₂CO₃ in 20 ml Wasser versetzt und 8 h am Rückfluss gekocht. Nach Abziehen des Lösungsmittels löst man den Rückstand in 1.5 l Eisessig und lässt innerhalb 1 h eine Lösung von 10 g CrO₃ in 280 ml Eisessig + 10 ml Wasser zutropfen. Anschließend lässt man 1 h rühren.²⁴ Nach Eindampfen *i. Vak.* nimmt man in CHCl₃ auf, wäscht mit verd. NaOH, bis die Chromsalze weitgehend entfernt sind. Das Produkt wird aus Aceton/Hexan umkristallisiert. Ausbeute: 58% = 3.7 g. F.p.: 202–4°C (Lit.²⁴: 203–6°C). NMR: 18-H 0.875 ppm (Ber. 0.867), 19-H 1.367 ppm (Ber. 1.367), 11-H 5.567 ppm, 4-H 5.767 ppm; MS: $M^+ = m/e$ 284, m/e 124 (charakt. Fragment⁶).

5 α -Androst-9(11)-en-3 β -ol-17-on (20). 3.7 g 23 in 90 ml Äther/Dioxan 1:1 werden zu einer Lösung von 720 mg Lithium in flüssigem Ammoniak zutropft, nach 30 Min wird langsam mit 9 g NH₄Cl versetzt. Nach Abdampfen des Ammoniaks nimmt man in CHCl₃ auf und arbeitet in üblicher Weise auf. Das Rohprodukt wird nach Ratcliffe und Rodehorst¹⁴ oxidiert. Man erhält 2.7 g rohes 5 α -Androst-9(11)-en-3,17-dion (26). Dieses löst man in 200 ml Pyridin und gibt diese Lösung zu 1.4 g NaBH₄ in 100 ml Pyridin.²⁶ Nach 2 h versetzt man mit Wasser und Äther und extrahiert zehnmal mit Äther. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10%iger HCl pyridinfrei gewaschen. Das nach Abziehen des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt (20) wird an 200 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 4:1 chromatographiert. Ausbeute (nach 3 Stufen): 35% = 1.3 g. F.p.: 171–2°C. Identisch mit dem aus Hecogeninacetat erhaltenen Produkt (s.o.).

4,4,6,8 β -d₄-Androst-5-en-3 β -ol (1h). 50 mg 10 lässt man mit 100 mg K-tert.-Butanolat in tert.-Butanol-Od, 24 h bei Raumtemp. stehen. Nach üblicher Aufarbeitung wird das deuterierte Produkt elektrolytisch²⁷ reduziert. Zweifache Plattenchromatographie des Rohproduktes ergibt 2 mg eines Gemisches, welches Hydrierungsprodukt (MS) enthält. Dieses lässt sich durch Chromatographie an einer AgNO₃-Platte abtrennen, wonach eine weitere Trennung auf einer normalen Platte erforderlich ist. Auf diese Weise konnten 0.5 mg 1h gewonnen werden. DC: Identisch mit 1a.

[†]Für die Sapogenin-Seitenkette konnten aus den NMR-Spektren mehrerer Sapogenine folgende Inkremente ermittelt werden: 19-H: –0.5 Hz (0.008 ppm), 18-H: 4.0 Hz (0.067 ppm). Das in den Zürcher-Tabellen⁷ aufgeführte Inkrement für 9(11)-en-12-oxo- konnte für 18-H auf 10.0 Hz (0.167 ppm)—angegeben: 16.0 Hz (0.267 ppm)—korrigiert werden.

Isotopenzusammensetzung: d₁: 0-6%, d₂: 10-1%, d₃: 30-2%, d₄: 52-0%, d₅: 3-6%.

9 α ,11 α -d₂-5 α -Androstan- β -ol-12-on-3-acetat (27a). 250 mg 5 α -Androst-9(11)-en- β -ol-12-on-3-acetat (11a) werden in 50 ml Essigester gelöst. Nach Zugabe einer Spatelspitze PtO₂ wird über einen Dreiweghahn evakuiert und mit N₂ belüftet. Dies wird dreimal wiederholt. Dann wird einmal mit D₂ gespült und der Kolben mit einer mit D₂ gefüllten Gummiblase verbunden. Die Lösung wird heftig gerührt. Nach 1 h ist das Produkt vollständig hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wird einer Oxidation nach Ratcliffe und Rodehorst¹⁴ unterzogen, wobei 27a entsteht, das ohne Reinigung für die nächste Stufe verwendet wird.

9 α -d₁-Androstan- β -ol (28a). 220 mg rohes 27a werden in 20 ml Diäthylenglykol zusammen mit 500 mg KOH gelöst und 30 Min auf 130°C erhitzt. Dann gibt man vorsichtig 1 g 85%iges Hydrazinhydrat dazu und hält weitere 30 Min bei derselben Temperatur.³ Anschließend lässt man überschüssiges Hydrazin abdampfen, bis die Temperatur ca. 200°C erreicht lässt 2 Std. abkühlen, verdünnt mit Wasser, extrahiert mehrfach mit Äther und arbeitet wie üblich auf. Chromatographie an 20 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 4:1 ergibt 28a. Ausbeute: 71% = 150 mg. F.p.: 146-7°C (Lit.²²: 147-9°C). DC: Identisch mit d₀-Androstan- β -ol. NMR: 18-H 0-700 ppm (Ber. 0-700), 19-H 0-833 ppm (Ber. 0-825).

9 α -d₁-2 α ,4 α -Dibrom-androstan-3-on (29a). 200 mg 9 α -d₁-Androstan- β -ol (28a), 570 mg N-Bromsuccinimid, 3 ml Essigsäure und 80 μ l Benzylalkohol erhitzt man 30 Min auf 60°C.²⁸ Nach Zugabe von Wasser extrahiert man mit Äther und arbeitet wie üblich auf. Das Produkt wird ohne Reinigung für die nächste Stufe verwendet.

9 α -d₁-2 α -Jod-androst-4-en-3-on (30a). Rohes 29a, 360 mg NaI und 10 ml Aceton werden 20 h am Rückfluss gekocht.²⁹ Nach Zugabe von Wasser wird mit Äther extrahiert, welcher anschließend mit 5%iger Na₂S₂O₃-Lösung gewaschen wird. Die übliche Aufarbeitung liefert ca. 180 mg rohes 30a, welches für die nächste Stufe eingesetzt wird.

9 α -d₁-Androst-4-en-3-on (3d). 180 mg rohes 30a werden 1 h mit 10 ml Collidin am Rückfluss gekocht.²⁹ Man setzt Wasser zu, extrahiert mit Äther, wäscht die organische Phase mit 5%iger Na₂S₂O₃-Lösung und anschließend mit verd. HCl. Das erhaltene 3d wird an 20 g Kieselgel mit CHCl₃ chromatographiert. Ausbeute: 9% = 17 mg. F.p.: 103°C (Lit.³: 104-5°C). DC: Identisch mit dem Produkt 3a aus Androst-5-en- β -ol, s.o.

9 α -d₁-Androst-5-en- β -ol (II). 14 mg 3d werden wie oben beschrieben ins Enolacetat⁹ überführt und anschließend mit NaBH₄ reduziert.¹⁰ Plattenchromatographie ergibt reines II. Ausbeute (über 5 Stufen): 3% = 5 mg. F.p.: 138°C (Lit.³ (d₀): 136-7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: (d₀-korrigiert) d₁: 86-5%, d₂: 8-3%, d₃: 5-2%.

5 α -Androstan- β -ol-12-on-3-acetat (27). 500 mg 11a werden wie weiter oben für 27 beschrieben mit H₂ umgesetzt und reoxidiert. Das erhaltene Produkt wird ohne Reinigung für die nächste Stufe verwendet. Ausbeute: 8% = 435 mg. NMR: 18-H 1-025 ppm (Ber. 1-075), 19-H 0-925 ppm (Ber. 0-942).

11,11-d₂-5 α -Androstan- β -ol-12-on-thiokeal (31). Das rohe 27 lässt man mit K-tert.-Butanolat in tert.-Butanol-Od, 3 Tage rühren. Dann wird mit CH₃COOD (1 ml) neutralisiert und zur Trockene eingedampft. Nach Aufnehmen in 3 ml CH₃COOD gibt man 0-5 ml 1,2-Dimercapto-äthan und 0-5 ml BF₃-Ätherat hinzu und lässt 1/2 h stehen,³⁰ versetzt mit Äther und wäscht die Lösung mit 5%iger NaOH, bis der Mercaptan-Geruch verschwunden ist. Ausbeute: 97% = 466 mg. F.p.: 148°C. MS: M⁺ = m/e 368, m/e 340, 307, 274 (M⁺-C₂H₅S₂).

11,11-d₂-5 α -Androstan- β -ol (28b). 466 mg 31 lässt man in 60 ml abs. Äthanol mit Raney-Ni aus 14 g Legierung¹¹ 13 h am Rückfluss kochen.³² Nach Abfiltrieren des Ni dampft man ein und chromatographiert das Rohprodukt an 45 g Kieselgel mit CHCl₃/Essigester 4:1. Ausbeute: 78% = 273 mg. F.p.: 146°C (Lit.²²: 147-9°C). DC: Identisch mit d₀-Androstan- β -ol. NMR: wie d₀-Androstan- β -ol, s.a. S. 15.

11,11-d₂-Androst-5-en- β -ol (Ij). 270 mg 28b werden wie oben beschrieben in 11,11-d₂-Androst-4-en-3-on überführt (24 mg). Dieses wird wie beschrieben⁹ ins Enolacetat überführt und mit NaBH₄ reduziert.¹⁰ Plattenchromatographie ergibt Ij. Ausbeute

(über 5 Stufen): 3% = 8 mg. F.p.: 139°C (Lit.³ (d₀): 136-7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 7-7%, d₁: 21-5%, d₂: 66-7%, d₃: 2-4%, d₄: 1-3%.

Androst-5,16-dien- β ,17-diol-diacetat (32). Zu einer Lösung von 33 g Androst-5-en- β -ol-17-on-3-acetat in 23 ml Isopropenylacetat gibt man 2-5 ml einer Katalysatorlösung aus 5 ml Isopropenylacetat + 0-1 ml H₂SO₄ und erhitzt während 2 h auf 95°C.³³ Man destilliert 7 ml Isopropenylacetat ab und gibt 16 ml Isopropenylacetat und 0-8 ml Katalysatorlösung dazu. Nach einer weiteren Stunde bei 95°C destilliert man das Isopropenylacetat ab, gibt Äther dazu und filtriert durch Al₂O₃. Das Rohprodukt wird für die nächste Stufe eingesetzt.

Androst-5-en- β -ol-16-on-acetat (35a). Das rohe 32 wird nach der Methode von Mori *et al.*³³ in Androst-5-en- β ,17 β -diol-16-on (34) überführt, welches wie beschrieben¹⁴ zu 35a umgesetzt wird. Ausbeute (über 5 Stufen): 6% = 190 mg. F.p.: 128°C (Lit.³²: 128-130°C). MS: kein M⁺, M⁺-AcOH = m/e 270.

15,15,17,17-d₄-Androst-5-en- β -ol (Ik). 20 mg 35a werden 2 h mit CH₃ONa (50 mg) in 10 ml CH₃OD unter N₂ am Rückfluss gekocht. Nach üblicher Aufarbeitung wird das Produkt wie beschrieben²⁷ elektrolytisch reduziert. Plattenchromatographie mit CHCl₃/Essigester 2:1 ergibt reines Ik. Ausbeute: 47% = 10 mg. F.p.: 138°C (Lit.³ (d₀): 136-7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 2-4%, d₁: 1-7%, d₂: 9-3%, d₃: 20-5%, d₄: 65-1%, d₅: 0-9%.

16,16-d₂-Androst-5-en- β -ol (II). 20 mg 2 werden 2 h unter N₂ mit 50 mg CH₃ONa in 10 ml CH₃OD am Rückfluss gekocht. Nach üblicher Aufarbeitung wird wie beschrieben²⁷ elektrolytisch reduziert. Präparative Dünnschichtchromatographie des Rohproduktes ergibt reines II. Ausbeute: 47% = 9 mg. F.p.: 136°C (Lit.³ (d₀): 136-7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 4-2%, d₁: 6-7%, d₂: 85-1%, d₃: 4-2%.

17,17-d₂-Androst-5-en- β -ol (Im). 20 mg 2 werden unter Verwendung von Dioxan/D₂SO₄ elektrolytisch²⁷ reduziert. Chromatographie (s.o.) ergibt reines Im. Ausbeute: 52% = 10 mg. F.p.: 138°C (Lit.³ (d₀): 136-7°C). DC: Identisch mit 1a. Isotopenzusammensetzung: d₀: 7-1%, d₁: 9-4%, d₂: 73-4%, d₃: 9-6%.

5 α -Brom-androstan- β ,6 β -diol-3-acetat (36). Zu einer Lösung von 3-1 g 6, 3-1 ml 70%iger HClO₄ und 2-1 ml H₂O in 40 ml Dioxan gibt man während 15 Min unter Kühlung 2-1 g N-Brom-acetamid und rührt 30 Min bei Raumtemp.³⁵ Nach abkühlen auf 5°C tropft man 20 ml 1%ige Na₂S₂O₃-Lösung zu, verdünnt mit Wasser und extrahiert mit Äther. Nach üblicher Aurarbeitung kristallisiert man aus CH₂Cl₂/Äther. Ausbeute: 59% = 2-4 g. F.p.: 161°C (Zers.). NMR: 18-H 0-733 ppm (Ber. 0-742), 19-H 1-342 ppm (Ber. 1-383); MS: kein M⁺, M⁺-AcOH = m/e 353 (geringe Int.), M⁺-Br-H₂O = m/e 315, M⁺-Br-CH₂CO = m/e 291, M⁺-Br-AcOH = m/e 273, M⁺-Br-AcOH-H₂O = m/e 255.

5 α -Brom-6 β ,19-oxido-androstan- β -ol-acetat (37). 15 g Pb(IV)-Acetat und 6-8 g CaCO₃ werden in 300 ml Cyclohexan auf 80°C erwärmt. Man gibt 3-3 g Jod und 2-3 g 36 zu, spült mit etwas Cyclohexan nach und kocht das Reaktionsgemisch unter Bestrahlung mit einer 500W-Lampe und Rühren bis zur Entfärbung unter Rückfluss.³⁵ Die abgekühlte Lösung wird durch Celit filtriert, das Filtrat mit Äther verdünnt und mit 10%iger Na₂S₂O₃-Lösung gewaschen. Eindampfen i. Vak. liefert nahezu reines 37. Ausbeute: 42% = 970 mg. F.p.: 131-2°C. MS: kein M⁺, M⁺-Br-AcOH = m/e 271 (Basis), M⁺-Br-AcOH-H₂O = m/e 253.

Androst-5-en- β ,19-diol-3-acetat (38). 970 mg 37 werden in 40 ml Eisessig und 1-8 ml H₂O gelöst und auf 45°C erwärmt. Man gibt portionenweise innerhalb von 15 Min 9-2 g Zn-Staub dazu, kühlt nach 40 Min auf Raumtemperatur ab und filtriert vom überschüssigen Zink³⁵ ab. Nach Eindampfen i. Vak. nimmt man in Äther auf und wäscht mit NaHCO₃-Lösung neutral. Das Rohprodukt wird für die nächste Stufe ohne weitere Reinigung verwendet.

19,19-d₂-Androst-5-en- β -ol (In). Zu einer Lösung von 2-3 g abs. Pyridin in 35 ml abs. CH₂Cl₂ gibt man 1-4 g CrO₃ und lässt 15 Min rühren. Dann fügt man eine Lösung von 814 mg rohes 38 in 10 ml CH₂Cl₂ hinzu und rührt 30 Min. bei Raumtemp.²⁷ dekantiert und wäscht den Rückstand mit Äther. Die vereinigten organischen Phasen werden mit verd. HCl, NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, bis die Lösung nahezu farblos erscheint. Nach Eindampfen werden 20 mg des Produktes in üblicher Weise

elektrolytisch reduziert,²⁷ wobei als Lösungsmittel Dioxan/D₂SO₄ Verwendung findet. Nach Verseifung mit methanolischer KOH und Chromatographie (s.o.) erhält man reines **1a**. Ausbeute: 35% = 7 mg. F.p.: 139°C (Lit.³ (d₀): 136–7°C). DC: Identisch mit **1a**. Isotopenzusammensetzung: d₀: 3.4%, d₁: 4.0%, d₂: 89.8%, d₃: 1.2%, d₄: 1.6%.

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchten wir für das zur Verfügung gestellte Massenspektrometer mit Datensystem, dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung, Herrn Doz. Dr. H. Vorbrüggen, Schering AG, Berlin, für wertvolle Ausgangssubstanzen, Herrn Dr. H. Laurent von derselben Firma für Literaturhinweise bestens danken.

LITERATUR

- ¹K. Schreiber, O. Aurich und G. Osske, *J. Chromatogr.* **12**, 63 (1963).
²R. F. Zürcher, *Helv. Chim. Acta* **46**, 2054 (1963).
³Huang Minlon, *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 3301 (1949).
⁴R. V. Oppenauer, *Org. Synth.* **21**, 18.
⁵A. Butenandt, L. Karlson-Poschmann, G. Failer, U. Schiedt und E. Bichert, *Liebigs Ann. Chem.* **575**, 123 (1952).
⁶R. H. Shapiro und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 2825 (1964).
⁷Ch. Meystre, H. Frey, W. Voser und A. Wettstein, *Helv. Chim. Acta* **39**, 734 (1956).
⁸C. Djerassi und J. Gutzwiller, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 4537 (1966).
⁹U. Westphal, *Chem. Ber.* **70**, 2134 (1937).
¹⁰B. Belleau und A. T. F. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 4458 (1951).
¹¹J. Diekmann und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **32**, 1005 (1967).
¹²A. Butenandt und A. Suranyi, *Chem. Ber.* **75**, 591 (1942).
¹³R. Gardi und C. Pedrali, *Gazz. Chim. Ital.* **91**, 1420 (1961).
¹⁴R. Ratcliffe und R. Rodehorst, *J. Org. Chem.* **35**, 4000 (1970).
¹⁵D. H. Williams, N. S. Bhacca und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2810 (1963).
¹⁶J. Broome, B. R. Brown, A. Robert und A. M. S. White, *J. Org. Chem.* **25**, 1406 (1960).
¹⁷A. Bowers, E. Denot, M. B. Sanchez, F. Neumann und C. Djerassi, *J. Chem. Soc.*, 1859 (1961).
¹⁸C. Djerassi, G. Rosenkranz und J. Martinez, *J. Org. Chem.* **16**, 303 (1951).
¹⁹H. Budzikiewicz, *Biochemical Applications of Mass Spectrometry* (G. R. Waller), Hrsg. von Wiley, New York (1972).
²⁰A. F. B. Cameron, R. M. Evans, J. C. Hamlet, J. S. Hunt, P. G. Jones und A. G. Long, *J. Chem. Soc.* 2807 (1955).
²¹G. Rosenkranz, O. Mancera, F. Sondheimer und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **21**, 520 (1956).
²²R. H. Shapiro, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 2837 (1964).
²³G. G. Hazen und D. W. Rosenburg, *J. Org. Chem.* **29**, 1930 (1964).
²⁴Y. Ueda und E. Mosettig, *Steroids* **1**, 361 (1963).
²⁵E. M. Chamberlin, E. W. Tristram, T. Utne und J. M. Chamerda, *J. Org. Chem.* **25**, 295 (1960).
²⁶E. Elisberg, H. Vanderhaeghe und R. F. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 2814 (1952).
²⁷L. Throop und L. Tökés, *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 4789 (1967).
²⁸L. Velluz, G. Nominé, R. Joly und A. Petit, *Bull. Soc. Chim. France* **905** (1953).
²⁹G. Rosenkranz, O. Mancera, J. Gatica und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4077 (1950).
³⁰L. F. Fieser, *Ibid.* **76**, 1945 (1954).
³¹H. R. Billica und H. Adkins, *Org. Synth. Coll. Vol. III*, 176 (1955).
³²R. H. Shapiro und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 2825 (1964).
³³T. Aoki, H. Yamamura, K. Takei und H. Mori, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **12**, 808 (1964).
³⁴T. Nambara, M. Kato, R. Imanari und T. Kudo, *Ibid.* **16**, 126 (1968).
³⁵J. Kalvoda, K. Heusler, H. Ueberwasser, G. Anner und A. Wettstein, *Helv. Chim. Acta* **46**, 1361 (1963).
³⁶H. Budzikiewicz und W. Ockels, *Tetrahedron* **32**, 141 (1976).