Organic Mass Spectrometry, 1975, Vol. 10, pp. 200 to 214. @ Heyden & Son Limited. Printed in Northern Ireland

# ZUM MECHANISMUS MASSENSPEKTROMETRISCHER FRAGMENTIERUNGSREAKTIONEN BEI A/B-*CIS*-VERKNÜPFTEN 3α-HYDROXYSTEROIDEN MIT UND OHNE 11-KETOGRUPPE

# M. ENDE und G. SPITELLER Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen, BRD

#### (Received 31 October 1974; accepted 11 December 1974)

Abstract—Mass spectra of steroids containing a carbonyl group in position 11 and a  $3\alpha$ -hydroxy group in a *cis* connected A/B ring system are characterised by very strong  $[M - 72]^{+}$  key ions and may therefore be clearly differentiated from the spectra of their isomers. The mechanism of this fragmentation reaction was investigated by deuterium labelling and the DADI technique. The  $3\alpha$ -hydroxy group is eliminated together with the  $9\alpha$ -H atom. Next a hydrogen atom is transferred from the A ring to the B/C/D ring system. This causes the cleavage of the C-3—C-4 bond and expulsion of C atoms 1 to 4 as butadiene. In  $3\alpha$ -hydroxy- $5\beta$ -androstanes possessing no 11-keto group an analogous  $[M - 18]^{+}$  fragment is formed, followed by the elimination of ethylene originating mostly from C-1 and C-2.

Zusammenfassung—Massenspektren von Steroiden, die eine  $3\alpha$ -ständige OH-Gruppe in einem *cis* verknüpften A/B-Ringsystem enthalten und zusätzlich eine Carbonylgruppe in Stellung 11 tragen, sind durch  $[M - 72]^+$ -Schlüsselionen hoher Intensität gekennzeichnet und unterscheiden sich damit eindeutig von ihren Isomeren. Der Bildungsmechanismus dieser Ionen wurde durch Markierung mit Deuterium und Aufnahme von Spektren mit Hilfe der DADI-Technik geklärt: Die  $3\alpha$ -Hydroxy-gruppe wird zusammen mit dem  $9\alpha$ -H-Atom eliminiert. In der Folge wird ein H-Atom aus dem A-Ring an das B/C/D-Ringsystem übertragen und dadurch die Abspaltung der C-Atome 1 bis 4 als Butadien ermöglicht. Fehlt in  $3\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -androstanen die 11-Ketogruppe, so wird zunächst ein analoges  $[M - H_2O]^+$ -Bruchstück gebildet, in einer Folgereaktion jedoch Äthylen, das vorwiegend C-1 und C-2 enthält, eliminiert.

BEI DER systematischen Untersuchung der Massenspektren von Androstanen und Pregnanen mit Sauerstoffunktionen in den Positionen 3, 11 und 17 bzw. 20 machten wir die Beobachtung, daß bei Vorliegen des Strukturelementes I (Gegenwart einer  $3\alpha$ -ständigen OH-Gruppe, einer 11 Ketogruppe und *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B) intensive Schlüsselionen bei  $[M - 72]^{+}$  und  $[M - 18]^{+}$  auftraten.<sup>1,2</sup> Das Schlüsselion  $[M - 72]^{+}$  fehlt in den Spektren anders konfigurierter Isomerer und



ermöglicht so eine eindeutige Konfigurationszuordnung. Durch exakte Massenbestimmung wurde nachgewiesen, daß das  $[M - 72]^+$ -Ion dem Verlust von Wasser und Butadien entspricht.

Wie wir bereits früher<sup>3</sup> darlegten, ist anzunehmen, daß nach Ionisation am Hydroxylsauerstoff an C-3 und Umklappen des A-Ringes in die Wannenform die Hydroxylgruppe in die räumliche Nähe des  $9\alpha$ -H-Atoms gelangt, so daß dieses selektiv abstrahiert wird. Durch Wasserabspaltung sollte dann das Radikalion *b* entstehen. Die Richtigkeit des postulierten Mechanismus der Wasserabspaltung konnte später durch Markierungsversuche von Klein und Djerassi<sup>4</sup> am Beispiel des  $3\alpha$ -Hydroxy- $5\beta$ cholans bestätigt werden.



In Verbindungen, die das Strukturelement I enthalten, muß die Abstraktion des  $9\alpha$ -ständigen H-Atoms noch mehr begünstigt sein, da die Carbonylgruppe in Position 11 benachbarte C—H-Bindungen aktiviert. Es war daher zu erwarten, daß im ersten Schritt der Bildung der  $[M - 72]^+$ -Ionen unter Wasserabspaltung Fragmente entstehen, die den Ionen der Struktur *b* analog sind.

Die folgende Butadieneliminierung sollte dann die Abspaltung von C-1 bis C-4 betreffen und unter Verschiebung eines Wasserstoffs an das B/C/D-Ringsystem verlaufen. Für das  $[M - 18]^+$  Ion c mit einer Ketogruppe in Position 11 kann man im Gegensatz zum  $[M - 18]^+$  Fragment b mit einer Methylengruppe in Position 11 zwei Grenzstrukturen anschreiben. Sieht man von Umlagerungsreaktionen ab, so kann Wasserstoffwanderung aus dem A-Ring nur an das C-9 Atom oder an das Carbonylsauerstoffatom erfolgen. Das radikalische Zentrum am Sauerstoff sollte eher bestrebt sein, Wasserstoff zu abstrahieren als das radikalische Kohlenstoffatom.

Als Wasserstofflieferanten kommen nur die Kohlenstoffatome 2 und 4 in Betracht, da die Wasserstoffatome in diesen Positionen durch die benachbarte positive Ladung aktiviert sind. In der Folge müßte es zum Bruch der 1,10-Bindung und der Ausbildung eines Allylkations (f) kommen, das durch 'Umklappen' der 4,5-Bindung das  $[M - 72]^+$ -Ion (g) bilden könnte. Alternativ kann g auch über d entstehen. Der postulierte Reaktionsmechanismus wurde in folgender Weise bestätigt:

(a) Spezifität der Wassereliminierung: Aus  $[9\alpha, 12\alpha-D_2]$ - $3\alpha$ -Hydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (II) und  $[9\alpha, 12\alpha-D_2]$ - $3\alpha, 17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (III) wird nicht H<sub>2</sub>O, sondern HOD eliminiert (Abb. 1 und 2). Das mit Hilfe der DADI-Technik<sup>†</sup> aufgenommene Spektrum der Tochterionen (DADI-Spektrum) vom Molekülion der Verbindung III untermauert diesen Befund.

(b) Butadienabspaltung: Zum Nachweis der Butadienabspaltung aus dem A-Ring und der Wasserstoffverschiebung von C-2 an das radikalische System im C-Ring wurde  $3\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-11-on (IV) in Position 2 und (aus synthesetechnischen Gründen) zusätzlich in den Positionen 4 und 16 deuteriert: Aus [2,2,4,4, 16,16-D<sub>6</sub>]- $3\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-11-on (V) wird nach Wasserabspaltung C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>D<sub>3</sub> eliminiert und nicht C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>D<sub>4</sub> (Abb. 3).

† Die DADI-(direct analysis of daughter ions)-Methode ermöglicht es, mit einem doppelfokussierenden Massenspektrometer mit umgekehrter Nier-Johnson-Geometrie metastabile Übergänge im zweiten feldfreien Raum durch Spannungsscan des elektrischen Feldes zu messen.<sup>5</sup>



Aus  $[2,2,4,4,9\alpha,12\alpha,16,16-D_8]$ - $3\alpha,17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (VI) wird erst HOD und anschließend C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>D<sub>3</sub> abgespalten (Abb. 4). Damit ist bewiesen, daß bei der Butadienabspaltung ein Wasserstoffatom aus einer der Stellung 3 benachbarten Position in das B/C/D-Ringsystem wandert.

In den Massenspektren von  $3\alpha$ -Hydroxysteroiden mit *cis*-verknüpftem A/B-Ringsystem, in denen die 11-Ketogruppe durch eine  $\alpha$ - oder  $\beta$ -konfigurierte Hydroxylgruppe ersetzt ist oder die in Position 11 keinen Substituenten tragen (Strukturelement VII), treten  $[M - 72]^+$ -Ionen nicht bzw. nur mit geringer Intensität auf.



In den Spektren von Verbindungen, die das Strukturelement VII enthalten, fallen jedoch Ionen auf, die durch eine Schlüsseldifferenz von 46 Masseneinheiten charakterisiert sind. Aus Hochauflösungsdaten läßt sich ableiten, daß diese Fragment-Ionen durch Abspaltung von Wasser und Äthylen aus den Molekülionen gebildet werden. Der massenspektrometrische Abbau dieser Verbindungen erfolgt also in völlig anderer Richtung als bei Gegenwart einer 11-Ketogruppe.

Die Tendenz zur elektronenstoßinduzierten Wassereliminierung ist auch bei diesen Verbindungen außerordentlich hoch, da eine  $3\alpha$ -Hydroxygruppe in einem









cis-verknüpften A/B-Ringsystem vorliegt (a). Da Grenzsturktur c nicht möglich ist, wird der Abbau weg über e, f nicht beschritten. Den  $[M - 18]^+$ -Ionen muß daher die Struktur b zugeschrieben werden. Für die Weiterreaktion unter Abspaltung von Äthylen lassen sich zwei mögliche Abbauwege postulieren: (1) Das primär gebildete Radikalkation (h) kann durch 1,3-Verschiebung des 5 $\beta$ -H-Atoms in einen energetisch stabileren Zustand übergehen, in dem sich die positive Ladung am tertiären C-Atom 5 befindet *i*. Das radikalische C-9-Atom löst dann einen Bindungsbruch zwischen C-1 und C-10 aus. Das an C-1 verbleibende Elektron bewirkt in der Folge einen Bruch der 2,3-Bindung, wodurch schließlich die C-Atome 1 und 2 als Äthylen eliminiert werden. Das gebildete Abbauprodukt (*j*) könnte sich durch Ringbildung unter Einbeziehung der 9,10-Doppelbindung stabilisieren. (2) Daneben kommt für die Äthyleneliminierung C-6 und C-7 in Frage: Wird in dem  $[M - 18]^+$ -Ion zunächst die 7,8-Bindung zu *k* und anschließend die 5,6-Bindung gespalten, so werden die C-Atome 6 und 7 als Äthylen eliminiert *l*.



Schema 2

Um zwischen den beiden möglichen Mechanismen zu unterscheiden, wurde das in Position 2 wie auch (aus synthetischen Gründen) in Position 4 und 16 deuterierte  $[2,2,4,4,16,16-D_6]-3\alpha,17\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan (VIII) ( $[M]^{+}=298$ ;  $C_{19}H_{26}$ - $D_6O_2$ ) hergestellt. Es zerfällt erwartungsgemäß (Abb. 5b) erst unter Wasser-, dann unter  $C_2H_2D_2$ -Abspaltung zu m/e 250;  $C_{17}H_{22}D_4O$ .

Mit geringer Intensität treten auch Ionen der Masse 252 ( $C_{17}H_{20}D_6O$ ) auf, die einem Verlust von H<sub>2</sub>O und C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (46 Masseneinheiten) aus dem D<sub>6</sub>-Isotop des Molekülions entsprechen.

Äthylen wird also nicht nur aus den Positionen 1 und 2, sondern auch in geringem





Maße aus anderen Positionen des Steroidgerüstes-wahrscheinlich aus 6 und 7eliminiert.

# Synthese der deuterierten Verbindungen

Zur experimentellen Bestätigung der postulierten Fragmentierungsmechanismen mußten entsprechende Steroide (vgl. Strukturelement I und VII) synthetisiert werden, bei denen die vermutlich an der Reaktion beteiligten Wasserstoffatome durch Deuterium ersetzt waren.

Um die Deuterierung möglichst einfach durchführen zu können, nahmen wir dabei zusätzliche Deuteriumatome in unwesentlichen Positionen in Kauf.

# Synthese der Verbindungen zur mechanistischen Deutung der Wasser- und Butadienabspaltung

Als Startmaterial für die Synthese von II und III stand uns Cortison (IX) zur Verfügung.

Durch Abbau der Corticoid-Seitenkette mit Natriumbismutat<sup>6</sup> und Hydrierung der  $\Delta^4$ -Doppelbindung<sup>2,7</sup> erhielten wir ein Isomerengemisch von 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Androstan-3,11,17-trion, aus dem wir die gewünschte Verbindung X mit 5 $\beta$ -ständigem Wasserstoff dünnschichtchromatographisch abtrennten. Die partielle Reduktion der 3-Ketogruppe in X zu 3 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -androstan-11,17-dion (XI) gelang mit Calciumborhydrid<sup>8</sup> in äthanolischer Lösung bei -25 °C. Die 17-Ketogruppe in XI wurde durch Huang-Minlon-Reduktion<sup>9</sup> entfernt (die Ketogruppe in Position 11 kann aus sterischen Gründen keine Carbonylreaktion eingehen). II wurde aus 3 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ androstan-11-on (XII) durch 16-stündigen säurekatalysierten H/D-Austausch erhalten.<sup>10</sup> Beim säurekatalysierten H/D-Austausch von 11-Ketosteroiden werden auch beim mehrstündigen Erhitzen nur zwei der insgesamt drei enolisierbaren H-Atome



SCHEMA 3

gegen Deuterium ausgetauscht und Produkte höherer Isotopenreinheit als beim Austausch in basischem Medium erhalten.

III wurde aus X durch vollständige Reduktion mit Natriumborhydrid<sup>11</sup> und anschließendem säurekatalysierten H/D-Austausch der H-Atome in den Positionen 9 und 12 des  $3\alpha$ ,  $17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-ons (IV) gewonnen.

Um den Beweis der Wasserstoffverschiebung aus dem A-Ring an das B/C/D-Ringsystem und der Eliminierung der C-Atome 1 bis 4 als Butadien zu erbringen, synthetisierten wir V und VI in folgender Weise:



X wurde zweimal einem säurekatalysierten Austausch der enolisierbaren H-Atome unterworfen. Durch Natriumborhydrid-Reduktion<sup>11</sup> des so entstandenen [2,2,4,4,  $9\alpha$ ,12 $\alpha$ ,16,16-D<sub>8</sub>]-5 $\beta$ -Androstan-3,11,17-trions (XIII) erhielten wir VI. Zur Darstellung von V tauschten wir die Deuteriumatome in den Positionen 9 und 12 der Verbindung VI durch 30 stündiges Erhitzen am Rückfluß in 4% iger methanolischer Salzsäure gegen Wasserstoff zurück.

# Synthese der Verbindungen zur mechanistischen Untersuchung der Äthylenabspaltung

Den Mechanismus der Wasser- und Äthylenabspaltung prüften wir am  $3\alpha$ ,  $17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan (XIV). Um den Nachweis zu führen, daß Äthylen überwiegend aus den Positionen 1 und 2 abgespalten wird, synthetisierten wir VIII.

Ausgehend von V führten wir ohne chromatographische Reinigung der Zwischenprodukte folgende Reaktionen durch: Die 11-Ketogruppe in V reduzierten wir mit Lithiumaluminiumhydrid; durch Erhitzen in methanolischer Salzsäure wurde die entstandene 11 $\beta$ -Hydroxygruppe dehydratisiert und die gebildete  $\Delta^{9(11)}$ -Doppelbindung über Platinoxid bei Normaldruck hydriert.<sup>12</sup>



### EXPERIMENTELLER TEIL

#### Aufnahme der Massenspektren

Die in der Arbeit abgebildeten Massenspektren wurden mit einem Varian-MAT CH-4-Massenspektrometer, versehen mit einer E-4B Ionenquelle, durch direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle aufgenommen. Die Elektronenstoßenergie betrug 70 eV, die Ionenquellentemperatur wurde zwischen 100 und 110 °C gehalten. Die Proben wurden zwischen 100 und 120 °C verdampft.

Die Bruttoformeln von Molekül- und Fragment-Ionen wurden mit einem doppelfokussierenden SM 1B Massenspektrometer der Fa. Varian-MAT, Bremen, bestimmt.

#### Messung der DADI-Spektren

Die DADI-Spektren wurden mit einem doppelfokussierenden MAT 311-Massenspektrometer der Fa. Varian-MAT gemessen. Die Ionenquellentemperatur betrug dabei 250 °C, die Ionisierung erfolgte ebenfalls bei einer Elektronenstoßenergie von 70 eV.

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler-Block bestimmt und sind unkorrigiert.

Zur präparativen Dünnschichtchromatographie wurde Kieselgel HR (Merck) verwendet.

## Vorschrift für den säurekatalysierten H/D-Austausch<sup>13</sup>

Ansatz für etwa 100 mg Ketosteroid: Zu 200 mg Deuteriumoxid gibt man portionsweise 50 mg Phosphor(V)-chlorid. Nach kurzem Stehenlassen dieser Mischung unter Stickstoff verdünnt man mit 200 mg Deuteriumoxid. 100 mg des Ketosteroids werden in 3 bis 5 ml Monodeuteromethanol gelöst und hinzugefügt. Die gesamte Reaktionslösung wird nun 10 bis 30 Std. unter Rückfluß erhitzt.

Bevor man zur Isolierung der deuterierten Verbindung mit Wasser verdünnt, muß zuerst mit Pyridin neutralisiert werden. Besser ist es, mit Deuteriumoxid zu verdünnen und dann mit Äther zu extrahieren. Zur Erhöhung des Deuterierungsgrades ist es oft vorteilhaft, die Austauschreaktion zu wiederholen.

*5β-Androstan-3*,11,17-*trion* (X). Aus 5 g (13,9 mMol) Cortison (IX) wurden durch Abbau der Corticoidseitenkette mit Natriumbismutat<sup>6</sup> 3,4 g (85% d. Th.) 4-Androstan-3,11,17-trion (XV) gewonnen, das durch zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton gereinigt wurde; Schmp.: 224 bis 226 °C (Lit.  $^{6}224$  °C).

2 g (6,7 mMol) XV wurden in 60 ml Methanol über 200 mg Palladium-Katalysator (10% Pd auf Calciumcarbonat) 3 Std. bei Raumtemperatur und Normaldruck hydriert. Das gesamte Rohrprodukt wurde durch Stufenchromatographie an Kieselgel-Dünnschichtplatten getrennt. Laufmittel: (a) Chloroform + Äther 1:1; (b) Äther, 0,5% Äthylalkohol. Zone A: 670 mg 5 $\alpha$ -Androstan-3,11, 17-trion (XVI),  $R_t$ -Wert 0,7 Schmp.: 173 bis 175 °C; (Lit. <sup>14</sup>180 bis 181 °C). Zone B: 910 mg öliges Produkt,  $R_t$ -Wert 0,55. Zone B wurde noch einmal der Stufen-Dünnschichtchromatographie unterworfen. Laufmittel: (a) Chloroform + Äther 1:1; (b) Chloroform + Äther 1:1 und 0,5% Äthylalkohol; (c) Chloroform + Äther 1:1 und 1% Äthylalkohol. Zone A: 310 mg XVI,  $R_t$ -Wert 0,7. Zone B: 380 mg 5 $\beta$ -Androstan-3,11,17-trion (X), Schmp.: 121 bis 127 °C (Äther, Cyclohexan) (Lit. <sup>14</sup>130 bis 132 °C). Die Umsetzung wurde mehrfach wiederholt.

 $3\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -androstan-11,17-dion (XI). 58 mg (0,508 mMol) Calciumchlorid in 12 ml Åthylalkohol wurden auf -25 °C abgekühlt und unter Rühren 34,4 mg (0,86 mMol) 95% iges Natriumborhydrid in 10 ml Äthylalkohol zugegeben. Nach 15 Min. wurde eine Lösung von 600 mg (2 mMol) X in 30 ml Äthylalkohol tropfenweise hinzugefügt.<sup>8</sup> Nach 2,5 Std. wurde die Reaktion durch Zugabe von Essigsäure (1 ml Eisessig, 2 ml Wasser) abgestoppt und die gesamte Reaktionslösung zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen und die Ätherlösung mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Abdestillieren des Äthers wurde das Rohprodukt dünnschichtchromatographisch gereinigt. Laufmittel: Äther, 3% Äthylalkohol. Zone A: 120 mg X  $R_{t}$ -Wert 0,45. Zone B: 250 mg XI, Schmp.: 185 bis 188 °C, (Lit. <sup>15</sup>188 bis 189 °C)  $R_{t}$ -Wert 0,35.

3α-Hydroxy-5β-androstan-11-on (XII). 75 mg (0,25 mMol) XI wurden nach Huang-Minlon<sup>4,9</sup> reduziert und das Rohprodukt der Reaktion dünnschichtchromatographisch gereinigt. Laufmittel: (a) Chloroform + Äther 85:15, 1% Äthylalkohol; (b) Chloroform + Äther 70:30, 1,5% Äthylalkohol. MS (rel. Int.): m/e 290 (65,  $[M]^+$ ), 275 (6,  $[M - CH_3]^+$ ), 272 (35,  $[M - H_2O]^+$ ), 257 (29,  $[M - (H_2O + CH_3)]^+$ ), 239 (7), 234 (4), 218 (60,  $[M - C_4H_8O]^{+\cdot}$ , A-Ring-Spaltung), 177 (90, C/D-Ringsystem, C-7 und C-6), 164 (42, C/D-Ringsystem und C-7), 151 (50, C/D-Ringsystem).

 $[9\alpha, 12\alpha-D_2]$ - $3\alpha$ -Hydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (II). Wurde aus XII durch 16 stündigen säurekatalysierten H/D-Austausch erhalten.<sup>10</sup>

 $3\alpha,17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (IV). Wurde durch NaBH<sub>4</sub>-Reduktion<sup>11</sup> aus 165 mg (0,55 mMol) X gewonnen (Reaktionszeit 30 Min.).

Die Reaktionsprodukte wurden durch Dünnschicht-Stufenchromatographie aufgetrennt und gereinigt. Laufmittel: (a) 60 ml Äther, 40 ml Chloroform, 1 ml Methanol; (b) 80 ml Äther, 20 ml Chloroform, 1 ml Methanol; (c) 90 ml Äther, 10 ml Chloroform, 1 ml Methanol; (d) 100 ml Äther, 5 ml Methanol. Zone A: c. 5 mg,  $3\alpha$ -Hydroxy- $5\beta$ -androstan-11,17-dion (XI);  $R_t$ -Wert 0,4, MS: m/e 304 (100, [M]+·), identisch mit dem Spektrum der Vergleichssubstanz.<sup>1</sup> Zone B: 7 mg,  $3\beta$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on,  $R_t$ -Wert 0,26, MS: m/e 306 (40, [M]+·), identisch mit dem Spektrum der Vergleichssubstanz.<sup>16</sup> Zone C: 90 mg IV,  $R_t$ -Wert 0,2, Schmp.: 245 bis 249 °C, (Lit. <sup>12</sup>252 bis 253 °C).

#### $[9\alpha, 12\alpha-D_2]$ - $3\alpha, 17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (III)

Wurde in gleicher Weise wie II ausgehend von IV gewonnen.

#### $[2,2,4,4,9\alpha,12\alpha,16,16-D_8]$ - $3\alpha,17\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androstan-11-on (VI)

200 mg X wurden zweimal einem 24stündigen säurekatalysierten H/D-Austausch unterworfen. 170 mg des isolierten Rohproduktes wurden analog zur Darstellung von IV mit Natriumborhydrid<sup>11</sup> reduziert und chromatographisch gereinigt. Es wurden 87 mg VI vom Schmelzpunkt 245 bis 248 °C erhalten. MS: m/e 314 [M]<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad: 5%  $d_6$ , 20%  $d_7$ , 62%  $d_8$ , 13%  $d_9$ , (vgl. Abb. 4).

#### $[2,2,4,4,16,16-D_6]-3\alpha,17\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-11-on (V)

37 mg VI wurden in 10 ml Methanol gelöst und unter Zugabe von 1 ml konz. Salzsäure 30 Std. unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurden 20 ml Wasser zugegeben, mit Natriumchlorid gesättigt und die wäßrige Phase mit Äther extrahiert. Aus der Ätherlösung wurden 32 mg V, Schmp.: 244 bis 248 °C (aus Aceton), isoliert. MS: m/e 312 [M]<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad: 5%  $d_5$ , 72%  $d_6$ , 20%  $d_7$  (vgl. Abb. 3).

 $[2,2,4,4,16,16-D_6]$ - $3\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -androstan (VIII) Ausgehend von 200 mg X synthetisierten wir wie angegeben 75 mg V, lösten es in 40 ml abs. Äther und gaben die Lösung innerhalb von 20 Min. zu einer Suspension von 23 mg (10fachem Überschuß) Lithiumaluminiumhydrid in 10 ml abs. Äther. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Std. unter Rückfluß erhitzt und dann das überschüssige Lithiumaluminiumhydrid durch Zufügen von 10 ml Essigsäureäthylester zerstört.

Durch Zugabe einiger ml verdünnter Salzsäure und Äthylalkohol wurde eine klare Lösung erhalten die zur Trockne eingeengt wurde.

Der Rückstand wurde in 60 ml Äthylalkohol aufgelöst und mit 40 ml 15% iger Salzsäure 2 Std. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 70 ml Wasser wurde das Reaktionsprodukt mit Äther extrahiert. Ausbeute 26 mg. [2,2,4,4,16,16-D<sub>6</sub>]- $3\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -androst-9(11)-en (XVII). 10 mg XVII wurden in 15 ml Eisessig unter Zugabe von 40 mg Platin(IV)-oxid 16 Std. bei Raumtemperatur und Atmosphärendruck hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Essigsäure unter Vakuum (Wasserstrahlpumpe) am Rotationsverdampfer abdestilliert (Rohausbeute: 9 mg VIII). Die weitere Reinigung erfolgte durch Umkristallisieren aus Äther/Aceton. Schmp.: 215 bis 221 °C. MS: m/e 298 [M]<sup>+</sup>, vgl. Abb. 5).

#### Deuterierungsgrad: $7\% d_4$ , $8\% d_5$ , $60\% d_6$ , $20\% d_7$ , $5\% d_8$ .

Danksagungen—Herrn Dr. G. Remberg danken wir für die Bestimmung der Bruttoformeln mit der Hochauflösungstechnik, Herrn Dr. U. Rapp, von der Firma Varian-MAT, Bremen, für die Aufnahme der DADI-Spektren. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- 1. H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, Tetrahedron 27, 1737 (1971).
- 2. M. Ende und G. Spiteller, Monatsh. Chem. 102, 929 (1971).
- 3. H. Egger und G. Spiteller, Monatsh. Chem. 97, 579 (1966).
- 4. H. Klein und C. Djerassi, Chem. Ber. 106, 1897 (1973).
- 5. D. H. Smith, C. Djerassi, K. H. Maurer und U. Rapp, J. Amer. Chem. Soc. 96, 3482 (1974).
- 6. C. J. W. Brooks und J. K. Norymberski, Biochem. J. 55, 371 (1953).
- 7. M. G. Combe, H. B. Henbest und W. R. Jackson, J. Chem. Soc. (C) 2467 (1967).

- 8. A. Hajos und O. Fuchs, Acta Chim. Sci. Hung. 21, 137 (1959).
- 9. Huang-Minlon, J. Amer. Chem. Soc. 68, 2487 (1946).
- 10. J. Fried und J. A. Edwards, Organic Reactions in Steroid Chemistry, Bd. 1. Van Nostrand Reinhold, New York, 1972.
- 11. E. Elisberg, H. Vanderhaeghe und T. F. Gallagher, J. Amer. Chem. Soc. 74, 2814 (1952).
- 12. H. L. Herzog, M. A. Jevnik und E. B. Hershberg, J. Amer. Chem. Soc. 75, 269 (1953).
- 13. J. Seibl und T. Gäumann, Helv. Chim. Acta 46, 2857 (1963).
- 14. F. Sondheimer, E. Batres und G. Rosenkranz, J. Org. Chem. 22, 1090 (1957).
- 15. Huang-Minlon, R. Tull und J. Babcock, J. Amer. Chem. Soc. 76, 2396 (1954).
- 16. Göttinger Steroid-Massenspektrenkartei, unpubliziert.