

ステロイドの分析化学的研究 (第 39 報¹⁾) ケトステロイド
メチルオキシム誘導体のポーラログラフイー^{2,3)}

神力就子,^{4a)} 南原利夫^{4b)}

北海道工業開発試験所,^{4a)} 東北大学医学部薬学科^{4b)}

Analytical Chemical Studies on Steroids. XXXIX.¹⁾
Polarography of Ketosteroid Methyloximes^{2,3)}

NARIKO SHINRIKI^{4a)} and TOSHIO NAMBARA^{4b)}

Government Industrial Development Laboratory, Hokkaido^{4a)} and
Pharmaceutical Institute, Tohoku University^{4b)}

(Received May 20, 1970)

Polarographic behavior of the methyloximes of testosterone, pregnenolone, estrone, isoandrosterone, and related ketosteroids was examined. Of these compounds, testosterone methyloxime showed two reduction waves, where the half-wave potentials were linearly dependent on pH. With respect to the reduction process of this compound, a mechanism involving two two-electron reductions has been proposed from the result of controlled potential electrolysis and of pH effect on the rate-determining step (Chart 1). The nonconjugated ketosteroid methyloximes also exhibited a reduction wave in acid solution. The half-wave potential and current constant measured at pH 1.00 are collected in Table IV. In addition, the nature of the polarographic wave characteristic to these compounds has been described.

飽和ケトステロイドは -2.0 V (*vs.* S.C.E.) より陽電位では通常還元波を示さない⁵⁾ ことから、従来、易還元性の Girard ヒドラゾン誘導体としてポーラログラフイーが行なわれてきた。⁶⁾ またこの種の前処理は飽和ケトステロイドのみならず不飽和ケトステロイドにも広く適用されている。最近ケトステロイドのガスクロマトグラフイーをメチルオキシム (MO) 誘導体として行なう方法が報告されている⁷⁾ が、ポーラログラフイーの場合もかさ高い Girard 試薬よりメトオキシアミンの方が立体障害が少なく前処理法として一層有利と考えられる。また MO 誘導体のポーラログラフイーにおける還元機構も興味ある課題である。

著者らは今回ステロイドの分析化学的研究の一環として testosterone, pregnenolone, estrone, isoandrosterone ならびに後 2 者の 16-ケト位置異性体、計 6 種をとりあげ、これらの MO 誘導体についてポーラログラフ的挙動を検討し、二、三の興味ある知見を得たので報告する。

結 果

Testosterone MO のポーラログラフイー

Testosterone MO (TMO)⁸⁾ は中性溶液中では還元波を示さないが、酸性ではかなり陽電位に正常な二段波が認

- 1) 第 38 報：神力就子，南原利夫，薬誌，91, 6 (1971).
- 2) 日本薬学会東北支部第 32 回例会で発表，仙台，1969 年 12 月.
- 3) 本報においてはつぎの慣用名を用いた。Testosterone= 17β -hydroxyandrost-4-en-3-one, pregnenolone= 3β -hydroxypregn-5-en-20-one, estrone=estra-1,3,5(10)-trien-17-one, isoandrosterone= 3β -hydroxy-5 α -androst-17-one.
- 4) Location: a) 41-2-Higashi-Tsukisamu, Sapporo; b) Aobayama, Sendai.
- 5) P. Kabasakalian, J. McGlotten, *Anal. Chem.*, **31**, 1091 (1959).
- 6) M. Březina, P. Zuman, "Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie," Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig, 1956, pp. 399-413.
- 7) H.M. Fales, T. Luukkainen, *Anal. Chem.*, **37**, 955 (1965).
- 8) TMO は *syn* 型と *anti* 型に分離されるが、両者のポーラログラフ的挙動には差がみられなかった。そこで以下の実験では両者を分離することなくそのまま使用した。

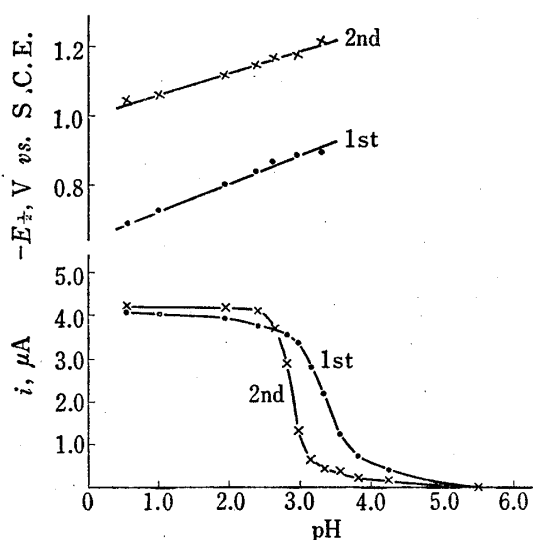


Fig. 1. Effect of pH on Limiting Current (i) and Half-Wave Potential ($E_{1/2}$) of Testosterone Methyloxime

conditions: 1.77 mM sample, 50% EtOH, 0.1M KCl, HCl, 0.01% gelatine, temp. $25 \pm 0.1^\circ$

れる transfer coefficient (α) が第 1 波 0.53, 第 2 波 0.58 ($n=2$) であることから支持される。

められた。この pH と波高, $E_{1/2}$ の関係を Fig. 1 に示す。およそ 2.5 以下の pH 域では波高は一定でかわらず, 第 1 波と第 2 波の波高比は 1:1 であった。 $E_{1/2}$ は pH の低下と共に陽電位に移動して両者の間に直線関係がみられ, 還元に H^+ が関与していることは明らかである。またその勾配は第 1 波で 70 mV/pH, 第 2 波で 60 mV/pH であった。

電流の性質を示す水銀圧と波高の関係, 温度係数を Table I にかかげたが, 電流は水銀柱の高さ h の平方根に比例し, 25° の波高に対する温度係数は測定可能な pH 域で第 1 波, 第 2 波ともに 2% 以下であった。また pH 1.00 における濃度と波高の関係を検討したが, 第 1 波, 第 2 波ともに検討した濃度範囲で良好な直線性を示した (Fig. 2)。これらの事実から限界電流は測定した pH 域で拡散支配であると結論される。

pH 1.00 における交流ピークの高さと直流波高の比は第 1 波が $21 \mu\sigma/\mu A$, 第 2 波が $44 \mu\sigma/\mu A$ であり, ともに可逆性にとぼしい。このことは log プロットから得ら

TABLE I. Effects of Temperature and Mercury Height on Limiting Current (i)

Compound	pH	conc. mM	h cm	i_1 μA	$i_1/h^{1/2}$	Temp. depend. %·deg ⁻¹	i_2 μA	$i_2/h^{1/2}$	Temp. depend. %·deg ⁻¹
	1.00	2.45	43.4	4.40	0.668	1.6	4.40	0.668	1.6
			53.4	4.95	0.677		5.00	0.684	
			63.4	5.40	0.678		5.40	0.678	
			73.4	5.75	0.671		5.65	0.659	
	2.80	1.85				1.6			1.7
	2.96	2.06				1.5			1.6
	1.00	1.35	53.4	0.84	0.114	3.4			
			63.4	0.92	0.115				
			73.4	1.00	0.116				
			83.4	1.16	0.126				
	1.00	0.65				3.0			
	83.4	0.81	0.088						
	1.00	2.97	53.4	1.64	0.224	4.6			
			63.4	1.79	0.224				
			73.4	1.94	0.226				
			83.4	2.00	0.219				
	1.00	0.56				3.0			
	83.4	0.79	0.087						

Testosterone MO の還元機構

Girard ヒドラゾン誘導体の還元機構に関しては、はじめ 2 電子還元を受けて二重結合が飽和されるとする説^{9a,b)} 4 電子還元であるとする説^{9c,d)} があったが、その後、Lund^{9e)} は $>C=N-N<$ 結合の還元は二重結合の飽和に先だち $N-N$ 結合の開裂がおこることを報告した。栞井ら^{9f)} は脂肪族ならびに芳香族ケトンの Girard ヒドラゾン誘導体について広範囲の pH 域における還元機構を詳細に検討し、 $>C=N-N<$ 結合が最終的には $>CH-NH_2$ に還元され、またその中間ではプロトンの付加した acid form がポーラログラフ的還元をうけやすいことを述べている。

オキシムの還元機構に関しては Lund ら^{9e,10a,b)} が 4 電子還元であることをたしかめるとともに acid form が還元される反応過程を指摘し、さらに $>C=N-O-$ 結合のうち $N-O$ 結合の開裂がまずおこり、ついで二重結合が還元され、対応するアミンを生ずる機構を報告した。^{10c)}

今回とりあげた MO 誘導体の還元も機構上これらに類似するものと推測されたが、以下に述べる検討の結果その還元機構を明らかにすることができた。

まず、還元に関与する電子数 (n) を知るため定電位電解を行なった。第 1 波の定常電流部分は後続の第 2 波によってせまいため、第 2 波の定常電流部分に電解電位を設定した。結果は Table II に示すように $n=4$ であったが、pH がおよそ 2.5 以下では第 1 波と第 2 波の波高比が 1:1 であることから両波共に $n=2$ と結論された。さらに定電位電解生成物を単離し、合成標品との比較の結果それが 3α -aminoandrost-4-en-17 β -ol であることを確認した。

TABLE II. Controlled Potential Electrolysis of Testosterone Methyloxime

Sample mg	Q^a coulomb	n^b	Sample mg	Q^a coulomb	n^b
2.20	2.55	3.82	1.98	2.61	4.34
2.20	2.66	3.98	1.98	2.39	3.99
2.20	2.64	3.95			avr. 4.02

a) electricity quantity, b) number of electrons transferred
conditions: 50% EtOH, 0.1M KCl, 0.01% gelatine, pH 1.9
cathode potential: -1.26 V vs. S.C.E.

前述のごとく H^+ が還元に関与することからその H^+ 数 (p) を式 (1)¹¹⁾ にしたがって算出した。

$$\frac{dE_{1/2}}{d(pH)} = \frac{-0.059}{\alpha n} \cdot p \quad (1)$$

ここで αn は log プロットから、 $dE_{1/2}/d(pH)$ は Fig. 1 に示した $E_{1/2}$ -pH 直線の勾配として求められる。結果は Table III に示すとおりであり、第 1 波、第 2 波ともに 1 つの H^+ が関与し、acid form が還元に与ることが明らかとなった。

以上の実験結果を考え合せ TMO のポーラログラフ的還元機構を Chart 1 のように説明することができる。TMO ならびに 3-イミノ中間体の acid form の pK_a は Fig. 1 からみてそれぞれ 3.29, 2.87 である。pH がお

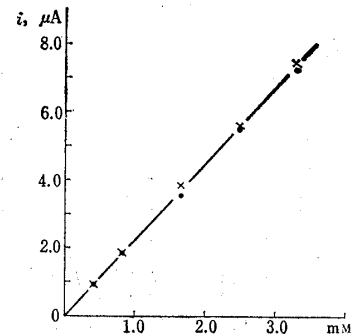


Fig. 2. Relation between Limiting Current (i) and Concentration of Testosterone Methyloxime at pH 1.00

●—●— 1st, —x—x— 2nd

9) a) V. Prelog, O. Häfliger, *Helv. Chim. Acta*, **32**, 2088 (1949); b) J.R. Young, *J. Chem. Soc.*, **1955**, 1516; c) M. Březina, V. Volková, J. Volke, *Chem. Listy*, **48**, 194 (1954); d) M. Březina, V. Volková, J. Volke, *Collection Czech. Chem. Commun.*, **19**, 894 (1954); e) H. Lund, *Acta Chim. Scand.*, **13**, 249 (1959); f) M. Masui, H. Ohmori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **12**, 877 (1964).

10) a) J.W. Haas, J.D. Storey, *Anal. Chem.*, **34**, 145 (1962); b) 松本昌次, 宮崎道彦, 石井政文, *薬誌*, **88**, 1093 (1968); c) H. Lund, *Acta Chem. Scand.*, **18**, 563 (1964).

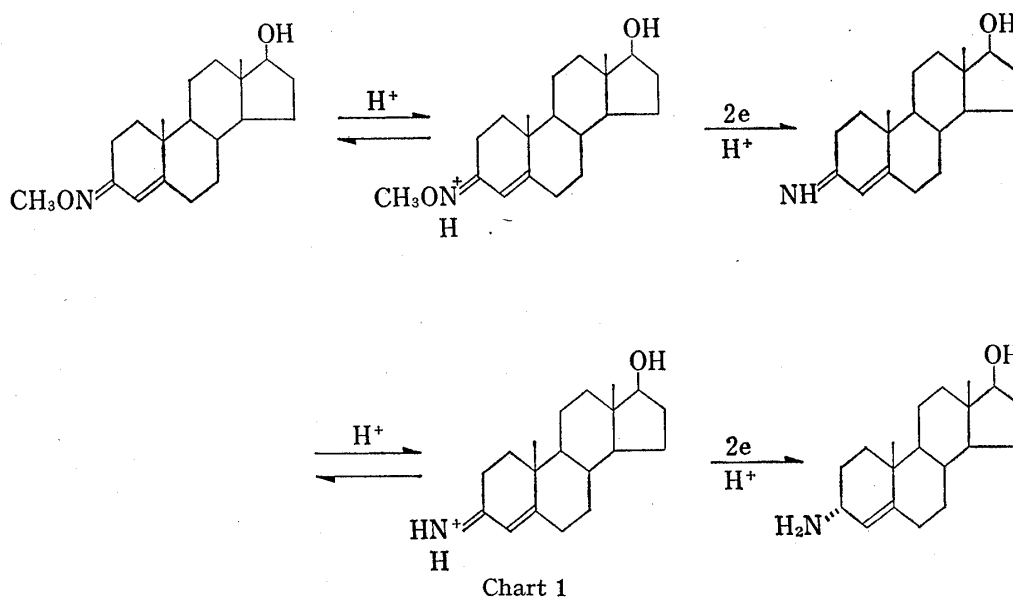
11) G. Dryhurst, P.J. Elving, *Anal. Chem.*, **40**, 492 (1968).

TABLE III. Effect of pH on Rate-Determining Step in Polarographic Reduction of Testosterone Methyloxime

pH	1 st			2 nd		
	$\alpha n^a)$	$dE_{1/2}/d(\text{pH})$	$p^b)$	$\alpha n^a)$	$dE_{1/2}/d(\text{pH})$	$p^b)$
1.00	1.05	0.070	1.24	1.16	0.060	1.18
1.94	0.82	0.070	0.97	0.95	0.060	0.97
3.32	0.58	0.070	0.69			

a) $E = E_{1/2} - 0.059/an \log i/i_d - i$

b) Number of hydrogen ions involved in the rate-determining step.
 $dE_{1/2}/d(\text{pH}) = -0.059/an p$



よそ 2.5 以上で第 1 波, 第 2 波ともに波高が低くなるのは acid form 形成の反応速度がきわめて小さいためであらう. このことはまた測定した pH 域で電流が拡散律速である事実からも支持される.

飽和ケステロイド MO のポーラログラフイー

非共役ケトンをもつステロイドとして estrone MO (EMO), 3-hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-16-one MO (E16-MO), isoandrosterone MO (IAMO), 3 β -hydroxy-5 α -androstan-16-one MO (IA16MO) および pregnenolone MO (PMO) をとりあげた.

IAMO は pH 変化, 濃度変化に伴い Fig. 3, 4 に図示するように特異なポーラログラムを示した. すなわち

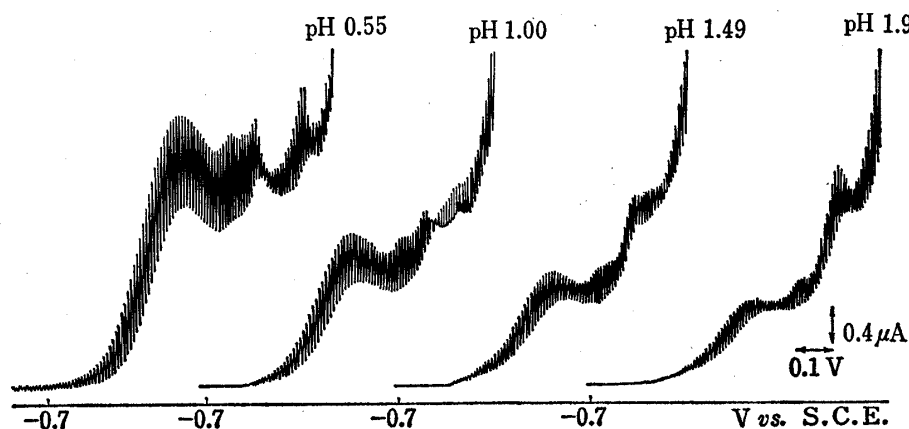


Fig. 3. Polarograms of Isoandrosterone Methyloxime at Various pH
 conditions: 2.52 mM sample, 50% EtOH, 0.1M KCl, HCl, 0.01% gelatine, temp. $25 \pm 0.1^\circ$

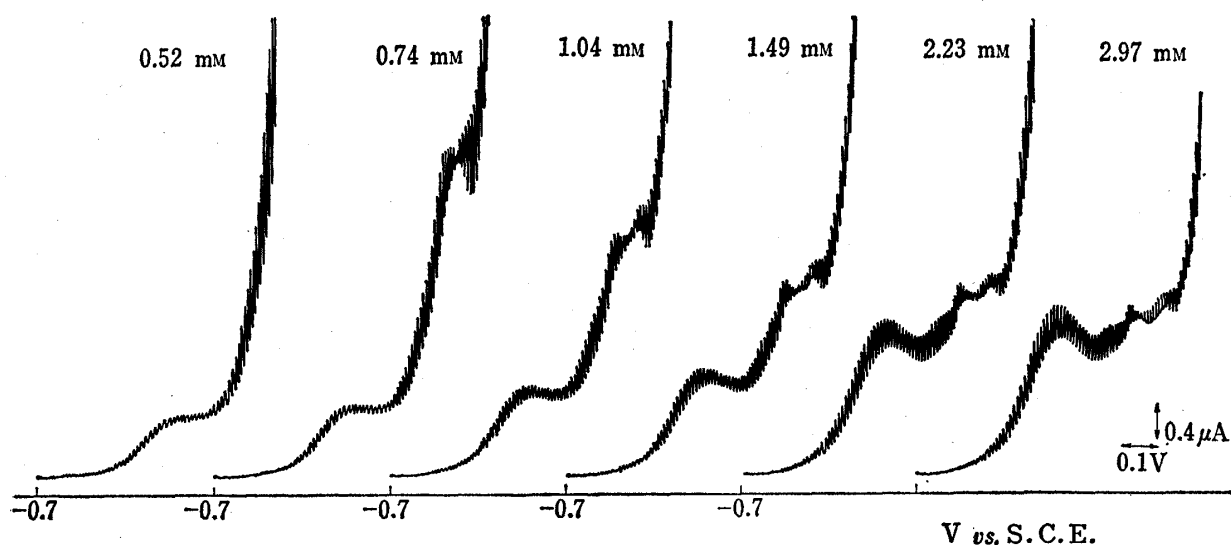


Fig. 4. Polarograms of Isoandrosterone Methyloxime at Various Concentrations (pH 1.00)

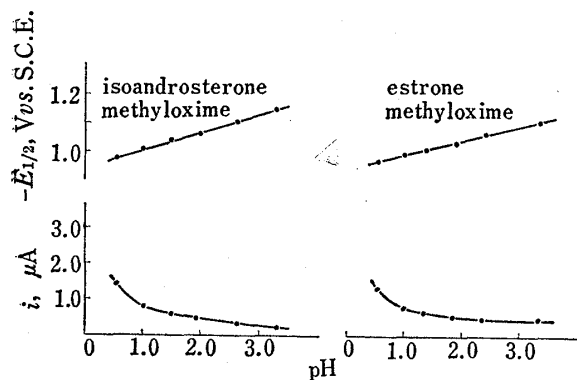


Fig. 5. Effect of pH on Limiting Current (i) and Half-Wave Potential ($E_{1/2}$)
sample concn: 1.365 mM

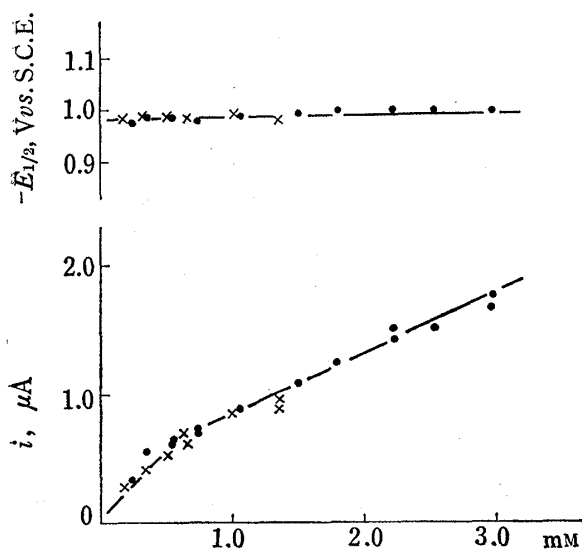


Fig. 6. Relation between Limiting Current (i), Half-Wave Potential ($E_{1/2}$) and Concentration at pH 1.00

●—●—: isoandrosterone methyloxime
x—x—: estrone methyloxime

pH が低くなるにつれ第1波の波高は高くなり、そのあとに複雑な波の続くのがみられる。一方濃度変化についてはおよそ 0.52 mm まで1段の還元波を示すが、濃度が高くなるにつれ pH 1.94 の場合のポーラログラムに類似し、さらに高濃度になると一層複雑になる。pH ならびに試料濃度と第1波の波高および $E_{1/2}$ の関係をそれぞれ Fig. 5, 6 に図示した。 $E_{1/2}$ は pH と直線関係を示し、その勾配は TMO の場合とほぼ同じであり、また濃度に依存しない。第1波の波高は低濃度 (—0.6 mm) においてはほぼ直線に従う関係を示したが、0.7 mm 以上では波高の増加率は減少した。また IAMO を復極剤とした時の電気毛管曲線は Fig. 7 のとおりである。電流の性質は Table I に示したように水銀中の高さ h の

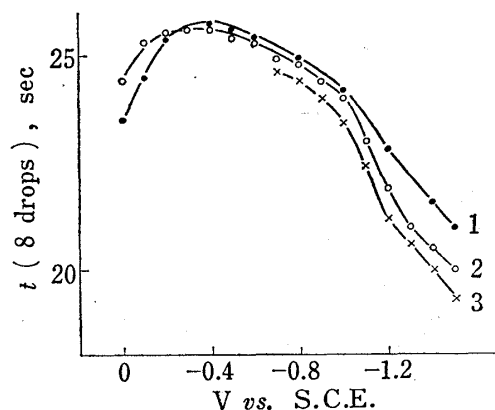


Fig. 7. Electrocapillary Curve of Test Solution Containing Isoandrosterone Methyloxime

conditions: 50% EtOH, 0.1M KCl, 0.01% gelatine, HCl (pH 1.00)
sample concentration: 1 blank, 2 2.97 mm, 3 0.74 mm

平方根に比例し、温度係数は低濃度では 3.0%，高濃度では 4.6% であった。

EMO についても同様に pH 変化、濃度変化について検討した (Fig. 5,6). EMO は溶解性がわるく低濃度においてしか検討できなかったが、IAMO と同じ傾向を示し、波形は 0.52 mM IAMO の場合と同じであった。pH 変化についても Fig. 5 に示すような関係が得られた。ここで EMO はわずかながら経時変化を示したため温度係数は温度ごとにあらたに電解液を調製して波高測定を行なったが、同濃度の IAMO の温度係数と一致した。これらの結果から IAMO, EMO の両者は同じポーラログラフ的性質を示すものと考えられる。

PMO も溶解性がわるくおよそ 0.6 mM で検討したが、還元波は支持液の析出波と重なるため諸性質については検討できなかった。

各化合物の pH 1.00 における $E_{1/2}$ と電流定数 I を一括して Table IV にかかげる。なお各化合物とも 3 回のくりかえし測定を行ない、平均値を求めたが、 $E_{1/2}$ の誤差は 0.01 V 以下である。

TABLE IV. Half-Wave Potential ($E_{1/2}$) and Current Constant (I) at pH 1.00

Compound	$-E_{1/2},^a$ V vs. S.C.E.	$I (=i/c \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6})$
Testosterone methyloxime	1st	0.709 ^{b)}
	2nd	1.025 ^{b)}
Estrone methyloxime	0.980	0.46
3-Hydroxyestra-1, 3, 5(10)-trien-16-one methyloxime	1.008	0.98
Isoandrosterone methyloxime	0.998	0.48
3 β -Hydroxy-5 α -androstan-16-one methyloxime	1.025	0.94
3 β -Hydroxypregn-5-en-20-one methyloxime	1.12	ca. 1.69

a) average value of three replicate determinations

b) Both *syn*- and *anti*-methyloximes showed the same value.

考 察

MO 誘導体は中性ないしアルカリ性では還元されず強酸性ではじめて還元波を示し、acid form のみが還元に関与することが判明したが、これは Girard ヒドラゾン類の挙動^{9,12)} と明らかに異なる。さらにそのポーラログラフ的還元はまず N-O 結合が開裂し、ついで $>C=N-$ が飽和される機構にしたがって進行する (Chart 1)。また TMO ならびに 3-イミノ体の acid form の pK_a はそれぞれ 3.29, 2.87 であることが明らかとなった。一般にポーラログラフイーにより求められる pK_a は限界電流が kinetic current を含むとき実際より大きい値を示すが、この場合、kinetic current を含まないため実測値をそのまま pK_a とみなすことができる。

EMO, IAMO の飽和ケトステロイド MO 誘導体は低濃度では第 1 波のみであるが、高濃度では濃度によって変る特異な波形の第 2 波を示した。第 1 波は水銀柱の高さの平方根に比例し拡散電流の性質を示すが、波高のものが高濃度で減少すること、また温度係数が低濃度においても大であるが高濃度ではさらに大きいことなどの現象は acid form の還元にもなって生ずる接触水素波¹³⁾ (第 2 波) の影響によるものと考えられる。この点については今後なお詳細な検討が必要である。

各化合物の $E_{1/2}$ と I は Table IV に示したとおりであり、検討した範囲内では PMO がもっとも難還元性である。EMO, E16MO, IAMO および IA16MO 4 者間の $E_{1/2}$ には顕著な差はみられない。

すでに 17-ケト体、 Δ^4 -3-ケト体を Girard ヒドラゾンに誘導してポーラログラフ的に分別定量する方法が知られている。たとえば estrone, testosterone はアルカリ性でそれぞれ -1.44 V, -1.23 V (vs. Hg pool) に $E_{1/2}$ を有し^{12a)} 分離定量が可能とされてきたが、還元波が連続し作図上の困難はさげ難い。しかし MO 誘導体では EMO の関与しない pH を設定することにより TMO の定量が容易となる。また TMO はガスクロマトグラム上 *syn*, *anti* 型 2 本のピークを示すが、ポーラログラフイーでは同じ $E_{1/2}$ を有し日常分析法として繁雑さをさげることができる。

12) a) J.K. Wolfe, E.B. Hershberg, L.F. Fieser, *J. Biol. Chem.*, **136**, 653 (1940); b) J. Barnett, A.A. Henly, C.J.O.R. Morris, *Biochem. J.*, **40**, 445 (1946); c) J. Barnett, C.J.O.R. Morris, *Biochem. J.*, **40**, 450 (1946).

13) M. Von Stackenberg, W. Hans, W. Jensch, *Z. Elektrochemie*, **62**, 839 (1958); 藤永太郎, 丸山正生編, "ポーラログラフイー", 南江堂, 東京, 1965, pp. 181-200.

さらに定電位電解は操作上若干の注意を要するとはいえ、単一生成物の 3 α -aminoandrost-4-en-17 β -ol を高収率に与え、選択的還元の一手法として有用と考えられる。

実 験 の 部

1. 試料の合成¹⁴⁾ (1) Testosterone Methyloxime^{15a,b)}—Testosterone 300 mg, MeONH₂·HCl 200 mg を EtOH 2 ml, ピリジン 0.6 ml に溶解し, 1.5 hr 還流. 濃縮物を AcOEt で抽出. 10% HCl, H₂O で順次洗滌後濃縮し, 希 EtOH で再結晶. mp 111.5—112.5° の無色針状晶を得る. Anal. Calcd. C₂₀H₃₁O₂N: C, 75.67; H, 9.84; N, 4.41. Found: C, 75.62; H, 9.79; N, 4.36.

syn および *anti* 型の分離^{15b,c)} はベンゼン-AcOEt (6:1) を展開溶媒とする preparative TLC で行なった.

anti 型: アセトン-ヘキサンで再結晶. mp 134.5—135.5° の無色針状晶を得る IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1634 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: +161.4° ($c=0.19$, CHCl₃).

syn 型: アセトンで再結晶. mp 189—190° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1630 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: +220.5° ($c=0.13$, CHCl₃).

(2) Estrone Methyloxime^{7,15d)}—Estrone 300 mg, MeONH₂·HCl 300 mg を EtOH 40 ml に溶解し, これに H₂O 6 ml に AcONa 800 mg を溶かした溶液を加え 18 hr 還流. AcOEt で抽出, 再結晶. mp 229.5° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1659 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: +91.2° ($c=0.17$, CHCl₃). Anal. Calcd. C₁₉H₂₅O₂N: C, 76.22; H, 8.42; N, 4.68. Found: C, 76.14; H, 8.28; N, 4.49.

(3) 3-Hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-16-one Methyloxime—(2) に準じて製す. 反応終了後 EtOH を留去. 析出する結晶を汙別し, 希 EtOH で再結晶. mp 208° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1651 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: -20.1° ($c=0.10$, CHCl₃). Anal. Calcd. C₁₉H₂₅O₂N: C, 76.22; H, 8.42; N, 4.68. Found: C, 76.46; H, 8.35; N, 4.58.

(4) Isoandrosterone Methyloxime—(2) に準じて製す. 反応終了後 EtOH を留去. 析出する結晶を汙別し, 希 EtOH で再結晶. mp 203.5—205.5° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1662 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: +56.7° ($c=0.15$, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₀H₃₃O₂N: C, 75.19; H, 10.41; N, 4.38. Found: C, 75.00; H, 10.31; N, 4.32.

(5) 3 β -Hydroxy-5 α -androstane-16-one Methyloxime—(2) に準じて製す. 反応終了後 EtOH を留去. 析出する結晶を汙別し, 希 EtOH より再結晶. mp 205.5—206.5° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1651 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: -73.8° ($c=0.14$, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₀H₃₃O₂N: C, 75.19; H, 10.41; N, 4.38. Found: C, 75.23; H, 10.26; N, 4.33.

(6) 3 β -Hydroxypregn-5-en-20-one Methyloxime—(2) に準じて製す. 反応後析出する結晶を汙別し, AcOEt-含水 EtOH で再結晶. mp 164—165° の無色針状晶を得る. IR cm⁻¹: $\nu_{C=N}$ 1669 (KBr). $[\alpha]_D^{25}$: +24.5° ($c=0.14$, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₂H₃₅O₂N: C, 76.47; H, 10.21; N, 4.05. Found: C, 76.19; H, 10.38; N, 4.30.

2. 装置および測定法 (1) ポーラログラフ—柳本ペン記録式ポーラログラフ 102 型を使用. 水銀滴下電極の毛細管特性は水銀柱の高さ $h=63.4$ cm のとき, 測定液 (pH 1.00) 中毎秒流出する水銀の重量 $m=1.115$ mg/sec, 滴下時間 $t=3.07$ sec (開回路) であった. 対極は飽和甘こう電極とし, 試料液は通常 2 ml を使用した. 緩衝液と混合後直ちにセットし, N₂ ガスを 15 min 通じた後, 25 \pm 0.1° で測定を行なった.

測定液の調製には Clark-Lubs 緩衝液を用い, 試料の溶解度を考慮して 50% EtOH とした. 液組成は 50% EtOH, 0.1M KCl, 0.01% セラチンとし, HCl 量により pH を調整した. したがって本報でいう pH は見かけの pH である.

(2) 定電位電解—柳本 VE-3 型を使用. セルは前報¹⁾ と同様である. TMO の定電位電解を行なうにあたって, まず設定電位を検討した. pH 1.5 では TMO の $E_{1/2}$ と水素波の析出電位が接近して, H⁺ の還元による電流が含まれるため n を正確に求めることができない. pH 2.4 では TMO の還元進行に伴い H⁺ が消費され pH が高くなるため, 還元が進行しがたい. 以上の点を考慮してつぎのような条件で定電位電解を行なった. すなわち設定電位を -1.26 V (vs. S.C.E.) とし, ポーラログラフ用電解液と同一組成である pH 1.9 の電解液 10 ml を陰極室にいれ定常電流が流れていることを確かめたうえ, TMO 2.2 mg を溶解した電解液 2 ml (脱酸素済み) を加えて電解した. 電解終了時の pH は約 2.2 であった. なお陰極水銀は被膜ができやすく電流値増大の原因となるので, 1 回ごとに汙別して被膜を除去した水銀を使用することが必要である.

3. 定電位電解生成物の同定 (2) の条件にしたがって TMO 約 35 mg を定電位電解に付した. 電解液の EtOH を留去し, 中和したのち, AcOEt で抽出, 無色結晶性物質を得た. 本物質は不安定であり, 確認のためただちにアセテートに誘導した. すなわち電解還元成績体をピリジン 0.3 ml に溶解し, Ac₂O 0.2 ml を加えて 70 hr 室温放置後, 常法どおり処理した. 得られた油状物質をシリカゲル G を用いる preparative TLC

14) 融点は柳本微量融点測定装置を使用し, 未補正. 旋光度は日本分光 DIP-SL 型自動旋光計を, 赤外吸収スペクトルは日本分光 DS-402 型赤外分光光度計を用いて測定した.

15) a) G. Drefahl, K. Ponsold, B. Schönecker, U. Rott, *Chem. Ber.*, **99**, 386 (1966); b) M.G. Horning, A.M. Moss, E.C. Horning, *Anal. Biochem.*, **22**, 284 (1968); c) S. Hara, K. Oka, Y. Ike, *Chem. & Ind.*, **1967**, 832; d) M. Heller, F.J. McEvoy, S. Bernstein, *J. Org. Chem.*, **28**, 1523 (1963).

(AcOEt-CHCl₃ (1:1)) に付し、主スポット部 (*R_f* 0.44) の吸着剤を剥取、溶出物を MeOH で再結晶し mp 145—146° の無色針状晶を得た。本品は還元成績体として予想される化合物数種のうち 3 α -aminoandrost-4-en-17 β -ol diacetate の標品に一致することを混融試験、IR スペクトル、TLC の比較により確認した。したがって電解生成物は 3 α -aminoandrost-4-en-17 β -ol である。

謝辞 本研究において貴重な標品を分与された D.K. Fukushima 博士 (Institute for Steroid Research, Montefiore Hospital, New York) に深謝します。また元素分析を担当された東北大学薬学科中央分析室の皆様にご礼申し上げます。