

ZUR LOKALISIERUNG FUNKTIONELLER GRUPPEN MIT HILFE DER MASSENSPEKTROMETRIE

XV†—MASSENSPEKTREN VON ANDROSTANEN MIT HYDROXYGRUPPEN IN DEN POSITIONEN 3, 16 UND 17

HEINFRIED GROTE und GERHARD SPITELLER ‡

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen, Tammannstraße 2,
3400 Göttingen, Germany

(Received 17 May 1976; accepted 21 June 1976)

Abstract—Compared with other isomeric androstane triols the mass spectra of those androstane triols with hydroxy groups in positions 3, 16 and 17 are characterized by intense molecular ions. Important fragment ions show the loss of C-15, C-16 and C-17 in the form of a fragment comprising 75 mass units. This ion shows facile loss of the hydroxy group in position 3 in the form of a water molecule producing a $[M - 93]^+$ ion. Further key ions are at *m/e* 60, 84 and 110. With the aid of three deuterated androstane trioles and high resolution it was shown that these ions contain parts of the D-ring system.

Zusammenfassung—Die Massenspektren von Androstantriolen mit Hydroxygruppen in den Positionen 3, 16 und 17 sind im Vergleich zu isomeren Triolen durch hohe Molekülionen gekennzeichnet. Schlüsselionen zeigen den Verlust der C-Atome 15, 16 und 17 des D-Ringes als 75 Masseneinheiten schweres Teilchen an. Das verbleibende Spaltstück verliert leicht die 3-ständige Hydroxygruppe als Wasser unter Bildung eines $[M - 93]$ Ions. Weitere Schlüsselbruchstücke zeigen die Massen 60, 84 und 110. Mit Hilfe dreier deuterierter Androstantrirole und der Massenfeinbestimmung läßt sich zeigen, daß diese Ionen Teile des D-Ringes enthalten.

IN BIOLOGISCHEN Materialien kommen Androstan-derivate vor, die in den Stellungen 3, 16 und 17 Sauerstoffsubstituenten besitzen.²⁻⁴ Beispielsweise enthält nach neuesten Beobachtungen von Ludwig⁵ Blut zwei bisher noch unbekannt und unidentifizierte 3, 16, 17-Trihydroxyandrostane. Um deren massenspektrometrische Identifizierung zu ermöglichen, ist Vergleichsmaterial erforderlich. Ziel dieser Arbeit war die Synthese und Aufnahme der Massenspektren isomerer Androstan-3,16,17 β -trirole.

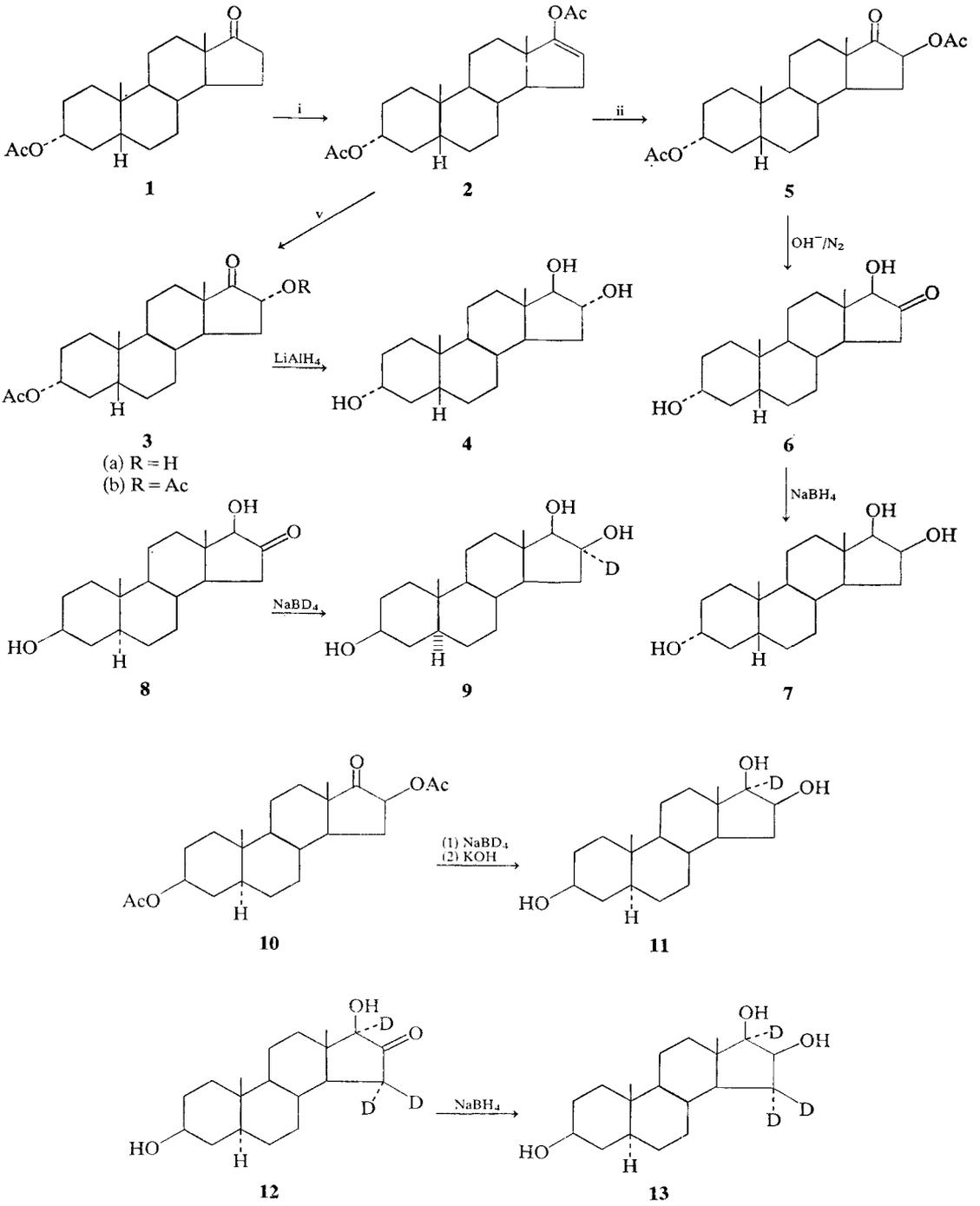
Darstellung der Verbindungen

Geeignete Ausgangsverbindungen zur Darstellung dieser Androstan-3,16,17-trirole sind die jeweiligen 3,17-Diacetoxyandrost-16-ene. Ein allgemeiner Weg zur Darstellung der Androstantrirole mit 3 α -Hydroxy-5 β -konfiguration, der analog auch für die anderen Isomeren gilt, wird in Schema 1 gegeben.

Zunächst erhält man aus dem 3 α -Acetoxy-5 β -androstan-17-on (1) durch Umsetzung mit Isopropenylacetat⁶ das 3 α ,17-Diacetoxy-5 β -androst-16-en (2), das mit *m*-Chlorperbenzoesäure⁷ ein Gemisch aus 3 α -Acetoxy-16 α -hydroxy-5 β -androstan-17-on (3a) und 3 α ,16 α -Diacetoxy-5 β -androstan-17-on (3b) ergibt. Aus dem Gemisch wird durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid das 5 β -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triol (4) erhalten.⁸

† XIV Mitteilung siehe Lit. 1.

‡ Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.



- i Isopropenylacetat
 ii Bleitetraacetat
 v *m*-Chlorperbenzoesäure

SCHEMA 1

Das epimere 16 β -Trihydroxyandrostan (7) ist u.a. aus der gleichen Ausgangsverbindung (2) zugänglich. Nach Umsetzung von 2 mit frischem Bleitetraacetat⁹ zu 3 α ,16 β -Diacetoxy-5 β -androstan-17-on (5), nachfolgender alkalischer Hydrolyse^{10,11}—eine Reaktion, die mit der Umlagerung der Substituenten in Stellung 16 und 17 verbunden ist—erhält man 3 α ,17 β -Dihydroxy-5 β -androstan-16-on (6), das anschließend einer Hydridreduktion zu 7 unterworfen wird.

Nach Literaturangaben wäre die saure Hydrolyse^{9,10} der alkalischen von 5 zu 6 vorzuziehen, obwohl sie mit einer Reaktionszeit von einigen Tagen bedeutend langsamer verläuft als die alkalisch katalysierte, für die nur wenige Stunden erforderlich sind, weil sie deutlich höhere Ausbeuten ergibt.

Wir fanden nun, daß die Reaktion mit 0,2 n wäßrig-methanolischer KOH nach 12 h quantitativ erfolgt, wenn unter Stickstoff gearbeitet wird.

Um in einige für die besprochene Verbindungsklasse typische massenspektrometrische Abbaureaktionen besseren Einblick gewinnen zu können, wurden deuterierte Androstantriole dargestellt: Aus 3 β ,17 β -Dihydroxy-5 α -androstan-16-on (8) erhält man durch Natriumbordeuteridreduktion das 16 α -Deutero-5 α -androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol (9) und aus dem 3 β ,16 β -Diacetoxy-5 α -androstan-17-on (10) nach anschließender Verseifung der Acetatgruppe das 17 α -Deutero-5 α -androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol (11). Die Verbindung 13 ist zugänglich durch eine Hydridreduktion des nicht erschöpfend deuterierten 3 β ,17 β -Dihydroxy-5 α -androstan-16-ons (12).¹²

DISKUSSION DER MASSENSPEKTREN

Gemeinsame Spaltreaktionen

Die Massenspektren der Androstan-3,16,17 β -triole sind durch intensive Molekülonen gekennzeichnet, ganz im Gegensatz zu denen anderer Trihydroxyandrostane.^{13–15} Offensichtlich ist dies durch die nachbarständigen Hydroxygruppen bedingt.

Für 17 β -Hydroxyandrostane ist die Abspaltung der Kohlenstoffatome 15, 16 und 17 unter Abstraktion eines Wasserstoffatoms aus dem ABC-Ringsystem im Zuge des Verlustes eines 59 Masseneinheiten (ME) schweren Teilchens eine typische Abbaureaktion.¹⁶

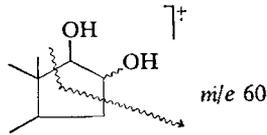
Das Vorhandensein einer zusätzlichen Hydroxygruppe in Stellung 16 fördert diese Spaltreaktion stark, so daß ein Hauptspaltstück bei $[M - 75]^+$ (m/e 233; $[C_{16}H_{25}O]^+$) gefunden wird. Noch intensiver ist das Ion bei $[M - 93]^+$ (m/e 215; $[C_{16}H_{23}]^+$), das in einer Folgereaktion unter Verlust der Hydroxygruppe in Stellung 3 als Wasser entsteht, aber auch durch primäre Wasserabspaltung mit nachfolgender Eliminierung von C-15, C-16 und C-17 gebildet werden kann. Die beiden Wasserabspaltungen unter Bildung der Ionen m/e 290 und m/e 215 sind durch das Auftreten metastabiler Ionen bei m/e 273 bzw. m/e 199 belegt. Begleitet werden die Spaltstücke bei m/e 233 und 215 durch Ionen der Masse 234 ($[C_{16}H_{26}O]^+$) und 216 ($[C_{16}H_{24}]^+$), die anzeigen, daß der Abbau des D-Ringes auch entweder ohne Wasserstoffverschiebung oder—wahrscheinlicher—durch reziproke Wasserstoffwanderung möglich ist.

Auch der zwei- und dreifache Verlust von Wasser ist möglich. Die dritte Wassereeliminierungsreaktion ist aber nur von untergeordneter Bedeutung. Als Folgereaktion beobachtet man jeweils die Abspaltung eines Methylradikals, so daß auch die Ionen

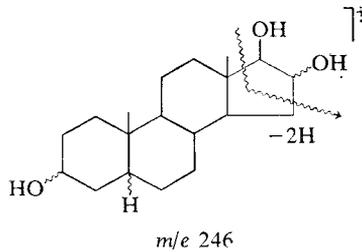
der Masse 275 $[M - 33]^+$, 257 $[M - 51]^+$ und 239 $[M - 69]^+$ auftreten. Die so gebildeten Spaltstücke sind bei den monodeutierten Androstantriolen (**9** und **11**) wie zu erwarten um 1 ME zu höheren Werten verschoben.

Besonders charakteristisch für die Massenspektren von 3,16,17-Trihydroxyandrostanen sind die Ionen mit gerader Masse im unteren Massenbereich bei m/e 60, bei m/e 84 und bei m/e 110.

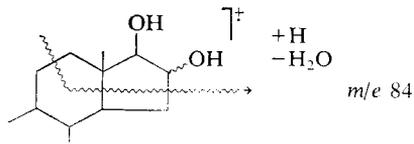
Das Schlüsselion der Masse 60 ist in den Spektren der beiden monodeutierten Androstantriolen (**9** und **11**) um eine ME nach m/e 61 verschoben. Das deutet darauf hin, daß es sich bei diesem Spaltstück um die Kohlenstoffatome 16 und 17 handelt.



Ein komplementäres Spaltstück bei $[M - 62]^+$ (m/e 246) untermauert die aus dem Ion der Masse 60 abgeleiteten Schlüsse, denn eine Massenfeinbestimmung ergab, daß dieses Ion durch Abspaltung von $C_2H_6O_2$ aus dem Molekülion gebildet wird. Da das gleiche Bruchstück auch aus den beiden monodeutierten Androstantriolen (**9** und **11**) entsteht, ist erwiesen, daß es durch doppelte Wasserstoffwanderung an die Atome C-16 und C-17 aus dem verbleibenden Steroidgerüst gebildet wird.

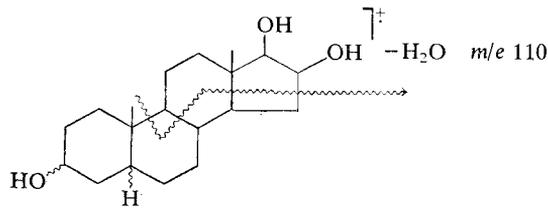


Dem Schlüsselion bei m/e 84 kommt die Summenformel C_5H_8O zu. In den Spektren der monodeutierten Androstantriolen (**9** und **11**) verschiebt es sich nach m/e 85, C-16 und C-17 sind demnach noch in dem Bruchstück enthalten. Da dieses Spaltstück in dem Spektrum der Verbindung **13**, in der neben C-17 auch C-15 teilweise mit Deuterium markiert ist, nicht zu höheren Massen verschoben ist, kann in dem Ion C-15 nicht enthalten sein. Danach erscheint folgender Fragmentierungsprozeß wahrscheinlich:



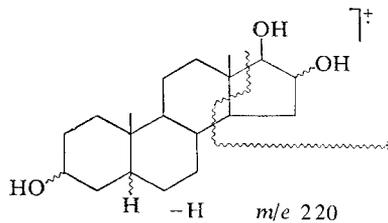
Das Ion der Masse 110 ($[C_7H_{10}O]^+$) ist in allen drei deutierten Androstantriolen nach m/e 111 verschoben. Unter der Annahme, daß es zu keiner Umlagerung des

Grundgerüsts kommt, kann folgender Fragmentierungsvorschlag gemacht werden, der allerdings die Postulierung einer erheblichen Zahl von Wasserstoffumlagerungsreaktionen nötig macht:

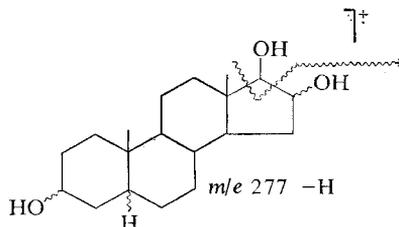


Nicht ganz von der Hand zu weisen ist eine alternative Erklärung der Bildung des Ions der Masse 110 unter der Annahme, daß zunächst ein Wasserstoffatom aus der Position 15 abwandert und somit das Spaltstück die Atome des D-Ringes mit C-12 umfaßt.

In allen Spektren tritt ein Schlüsselion der Masse 220 auf, dem die Summenformel $C_{15}H_{24}O$ zukommt. In den Spektren der Androstantriolen, in denen der Wasserstoff in Stellung 17 (**11**), in Stellung 16 (**9**) und in Stellung 17 sowie weitgehend in Stellung 15 (**13**) gegen Deuterium ausgetauscht ist, verschiebt sich das Bruchstück der Masse 220 nicht, so daß auch in diesem Falle eine ungewöhnliche Abbaureaktion möglich wäre:



Charakteristisch, wenn auch nicht sehr stark ausgeprägt, ist ferner die Abspaltung eines 31 ME schweren Teilchens aus dem Molekülion zum Spaltstück der Masse 277, die bei anderen uns bekannten Androstantriolen bisher nicht beobachtet wurde.²⁴ Wie die Spektren der markierten Verbindungen zeigen, handelt es sich dabei um den Verlust des Kohlenstoffatoms 17 mit der Hydroxygruppe und einem zweiten aus dem Grundgerüst übertragenen Wasserstoffatom. Eine derartige Abspaltung wird auch bei den Trimethylsilyläthern von Androstan-3,16,17-triolen beobachtet, hier allerdings nur zusammen mit einem weiteren Verlust von Trimethylsilanol, so daß in diesem Fall $[M - 193]^+$ -Ionen auftreten.¹⁷⁻¹⁹



In der folgenden Tabelle 1 sind die charakteristischen oder zur Identifizierung der Isomeren geeigneten Ionen aufgeführt.

TABELLE 1

m/e	Substanz Nummer ^a								m/e	Substanz Nummer ^a							
	14	15	16	17	18	19	4	7		14	15	16	17	18	19	4	7
60	16	20	11	14	14	18	15	14	217	12	8	6	7	9	10	20	19
81	73	87	46	50	68	79	83	78	218	3	2	2	2	2	3	14	13
82	11	11	7	8	7	13	11	11	219	9	6	4	5	3	5	3	3
83	19	25	12	15	15	19	22	19	220	18	16	19	12	14	16	4	4
84	25	43	22	28	18	20	15	7	233	50	48	34	41	58	54	26	26
107	70	85	48	61	69	73	57	51	234	34	32	25	27	26	24	13	13
108	55	61	36	45	62	60	32	33	239	7	7	3	5	4	6	7	7
109	46	48	26	32	44	46	37	37	241	3	2	2	4	3	5	11	12
110	45	53	28	34	46	48	30	32	246	17	23	16	19	14	15	7	7
111	15	16	7	8	11	12	8	9	257	15	12	8	10	14	15	20	20
121	35	43	24	28	35	37	35	34	259	10	9	7	9	5	8	11	12
122	13	17	10	11	14	16	12	12	272	22	19	13	15	26	22	50	58
123	20	20	12	14	14	16	14	14	275	16	14	10	13	17	16	15	18
124	12	15	8	8	21	21	4	5	277	6	4	4	5	4	6	—	—
180	—	—	—	—	—	—	4	4	290	80	89	70	86	92	81	57	68
194	—	—	—	—	—	—	6	7	308	100	100	100	100	100	100	66	81
215	87	84	52	65	93	85	97	100									
216	32	26	17	22	32	30	56	54									

^a Substanznummer: **14**, 5 α -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triol; **15**, 5 α -Androstan-3 β ,16 α ,17 β -triol (Abb. 1); **16**, 5 α -Androstan-3 α -16 β ,17 β -triol;²⁵ **17**, 5 α -Androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol;²⁵ **18**, 5 β -Androstan-3 β ,16 α ,17 β -triol (Abb. 2); **19**, 5 β -Androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol;²⁵ **4**, 5 β -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triol; **7**, 5 β -Androstan-3 α ,16 β ,17 β -triol (Abb. 3).

UNTERSCHIEDUNG DER ISOMEREN

Ganz allgemein kann festgestellt werden, daß sich die an C-16 isomeren Androstantrirole praktisch nicht voneinander unterscheiden. Das mag darauf zurückzuführen sein, daß der Abbau des D-Ringes durch den Bindungsbruch zwischen C-13 und C-17 eingeleitet wird. Danach ist die Alkylkette von C-15 bis C-17 frei beweglich, so daß die Konfiguration der 16-Hydroxygruppe sekundäre Bedeutung erhält. Auf die die Ringe A und B betreffenden Abbauwege hat die unterschiedliche Stellung der 16-Hydroxygruppe wegen ihrer räumlichen Entfernung sicher keinen Einfluß.

Die Stellung der Hydroxygruppe in Position 3 hat bei gleichzeitiger *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B wie bereits oftmals gezeigt^{13,15,20} kaum unterschiedliche Spaltreaktionen zur Folge.

Aus diesem Grund sind die Spektren der vier Androstan-3,16,17 β -trirole mit 5 α -ständigem Wasserstoff nur sehr schwer zu unterscheiden. Einen schwachen Hinweis auf das Vorliegen der 16 α -Isomeren (**14**) und (**15**) (Abb. 1) können nur die unterschiedlichen Intensitätswerte der Spaltstücke der Masse 239 (dreimal intensiver) im Vergleich zu dem der Masse 241 und *m/e* 259 (deutlich intensitätsschwächer) im Vergleich zu *m/e* 257 geben. Das 5 α -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triol (**14**) unterscheidet sich von seinem 3 β -Isomeren (**15**) dadurch, daß die Bruchstücke der Masse 109 und 83 im Vergleich zu ihren Nachbarn bei *m/e* 110 und *m/e* 84 intensiver sind.

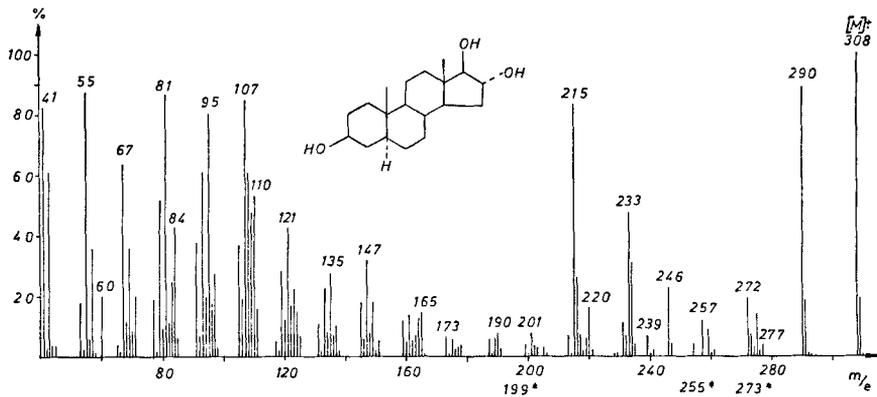
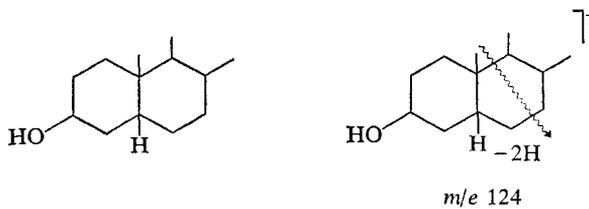


ABB. 1. 5α -Androstan- $3\beta,16\alpha,17\beta$ -triol (15).

Im Gegensatz zu den vier Androstantriolen mit 5α -ständigem Wasserstoff zeigen die Spektren der Isomeren mit *cis*-verknüpftem A/B Ringsystem deutliche Unterschiede: Wie bekannt, ist für Verbindungen mit dem Strukturelement (20) mit 3β -ständiger Hydroxygruppe und 5β -ständigem Wasserstoff ein Ion der Masse 124 typisch. Dementsprechend findet man in den Spektren der Verbindungen 18 (Abb. 2) und 19 ein Ion der Masse 124.¹³ In den Spektren der Isomeren mit 3α -ständiger Hydroxygruppe ist dieses Ion viel schwächer ausgeprägt.



Strukturelement 20

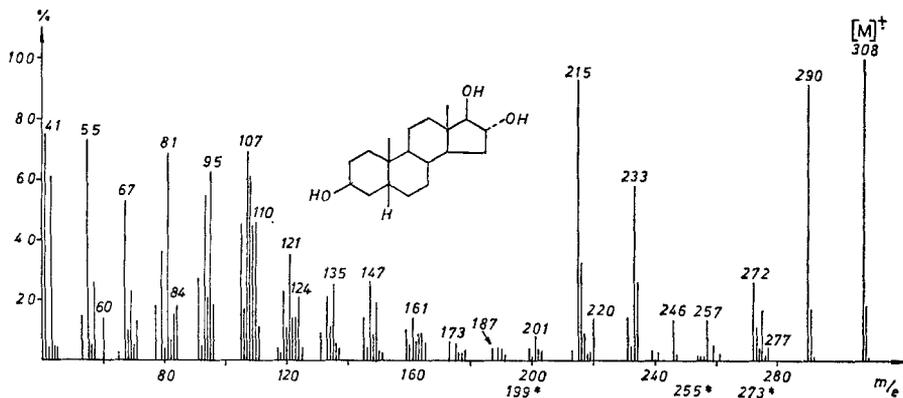
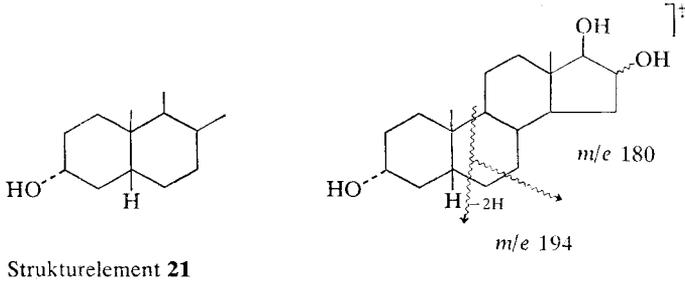


ABB. 2. 5β -Androstan- $3\beta,16\alpha,17\beta$ -triol (18).

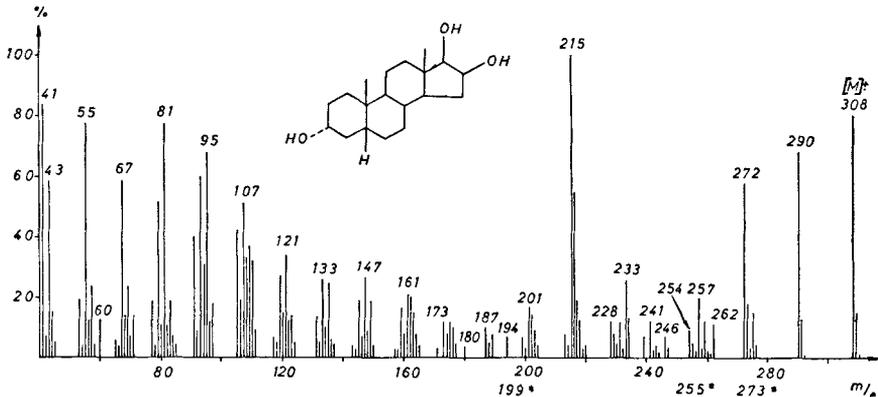
A/B-*cis*-verknüpfte 3 α -Hydroxysteroiden mit dem Strukturelement **21** zeigen oft ein von den entsprechenden 3 β -Isomeren stark unterschiedliches Abbauverhalten.²¹⁻²³



Aufgrund der besonderen stereochemischen Bedingungen ist bei diesen Verbindungen der Verlust der 3 α -Hydroxygruppe und des Protons an C-9 stark begünstigt. Diese typische Eigenschaft des Strukturelements **21** zeigt sich an der verminderten Intensität der Molekülionen im Vergleich zu den Bruchstücken der Masse 272, 228, 216 und 215.

Charakteristisch für diese 3 α -Hydroxy-5 β -androstane ist ferner die Bildung von $[M - 46]$ -Ionen, entsprechend dem Verlust von Wasser und Ethylen aus dem Ring A. Diese Spaltung führt zum Ion der Masse 262.

Ein weiterer Unterschied zu den sechs Androstantriolen (**14**, **15**, **16**, **17**, **18** und **19**) ist bei den Verbindungen **4** und **7** (Abb. 3) das Auftreten der Schlüsselionen bei



m/e 180 (vorwiegend $[C_{11}H_{16}O_2]^+$) und 194 ($[C_{12}H_{18}O_2]^+$), dem Verlust von Teilchen mit 114 bzw. 128 ME entsprechend. Die beiden Abbaureaktionen, die auf den Verlust des Ringes A mit C-10 bzw. auch noch C-6 zurückzuführen sind, wurden schon oft als Charakteristika von A/B-*cis*-verknüpften 3 α -Hydroxysteroiden beobachtet.²⁴ Dabei werden zwei Wasserstoffatome von dem verbleibenden Gerüst auf das abspaltbare Fragment übertragen.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Massenspektren der freien Steroide wurden mit einem Varian MAT CH-4 Massenspektrometer durch direkte Einführung der Probe in die E-4B Ionenquelle aufgenommen. Die Elektronenenergie betrug 70 eV, die Ionenquellentemperatur 80-100 °C. Die Verdampfungstemperatur der Proben lag zwischen 160 und 190 °C.

In den nicht abgebildeten Massenspektren sind nur die Schlüsselionen und die Bruchstücke mit einer höheren Intensität als 20% aufgeführt. Bei den deuterierten Verbindungen **9**, **11** und **13** wurden nur die für die mechanistische Betrachtung interessierenden Ionen ausgewählt.

Die Bruttoformeln der Molekülionen und der Bruchstücke wurden mit einem Varian SM 1-B Massenspektrometer durch 'peak-matching' bestimmt. Wir danken den Herren Dr. G. Remberg und Dr. M. Ende für die Ausführung der Messungen.

Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian HA-100 Spektrometer angefertigt.

Zur präparativen Trennung und Reinigung der Verbindungen wurde Kieselgel der Fa. Merck (Schichtdicke 0,25 oder 0,50 mm) verwendet. Dabei wurde jeweils eine Kombination von Stufen- und Mehrfachchromatographie angewandt.²⁸ Als Laufmittel zur Reinigung der Androstantriole diente Ether mit 5% Methanol.

Die analytische DC wurde mit Kieselgel H der Fa. Merck (Schichtdicke 0,25 mm) ausgeführt. Als Laufmittel wurde Ether mit 2% Methanol verwendet. Als Sprühreagenz diente Anisaldehyd + Schwefelsäure in Eisessig.

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Koflerblock bestimmt und sind nicht korrigiert.

Darstellung der 3,17-Diacetoxy-5 β -androst-16-ene:⁹ Eine 1%ige Lösung des 3-Acetoxy-5 β -androstan-17-ons in frisch destilliertem Isopropenylacetat wurde mit *p*-Toluolsulfonsäure entsprechend 1% des Steroidgewichtes versetzt und unter ständigem Zutropfen weiteren Isopropenylacetats 24 h langsam über eine 20 cm Kolonne destilliert.

Die gekühlte Lösung wurde schnell mit eiskaltem Ether und 5%iger Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und mit gesättigter Natriumchloridlösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und das Reaktionsgemisch dünnschichtchromatographisch (Laufmittel 2 \times Methylenechlorid) getrennt.

(a) 500 mg 3 β -Acetoxy-5 β -androstan-17-on ergaben 261 mg (46,5%) Enolacetat und 171 mg (34,2%) Ausgangsmaterial.

Fp: 111–112 °C (Methanol); [C₂₃H₃₄O₄]⁺; Ber.: 374,2456; Gef.: 374,2374 (MS).

MS (rel. Int.): *m/e* 374 (13, [M]⁺), 332 (100, [M - H₂C = C = O]⁺), 317 (17, [M - (C₂H₂O + CH₃)]⁺), 272 (10, [M - (C₂H₂O + CH₃CO₂H)]⁺), 257 (25), 239 (3), 55 (21), 43 (42).

(b) 700 mg 3 α -Acetoxy-5 β -androstan-17-on (**1**) ergaben 342,5 mg (43,5%) Enolacetat (**2**) und 248 mg (35,5%) Ausgangsmaterial.

Fp: 92 °C (Methanol); [C₂₃H₃₄O₄]⁺; Ber.: 374,2456; Gef.: 374,2499 (MS).

MS (rel. Int.): *m/e* 374 (10, [M]⁺), 332 (100, [M - H₂C = C = O]⁺), 317 (6, [M - (C₂H₂O + CH₃)]⁺), 272 (16, [M - (C₂H₂O + CH₃CO₂H)]⁺), 244 (2), 239 (4), 215 (2), 176 (7), 55 (32), 43 (100).

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Androstan-3,16 α ,17 β -triole.^{7,8}

Einer 0,7-molaren Lösung des entsprechenden Enolacetats in Benzol wurde unter Rühren innerhalb einer Stunde *m*-Chlorbenzoesäure im Überschuß zugesetzt. Nach 24 h (Zimmertemperatur) wurde mit Essigester verdünnt, schnell mit eiskalter 1 n NaOH und dann mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das erhaltene Produktgemisch wurde in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und langsam in eine Suspension der doppelten Menge Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran getropft. Dann wurde 2 h unter Rückfluß erhitzt (Trockenrohr) und überschüssiges Hydrid in der abgekühlten Lösung mit Essigester zerstört.

(a) Die Suspension wurde mit Ethanol verdünnt und insgesamt dreimal (von nachgegebenem Ethanol) abzentrifugiert. Die nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels zurückbleibenden Produkte wurden DC-getrennt. Die 16 α -Hydroxyverbindungen wurden aus der untersten Zone eluiert.

(a₁) So ergaben sich aus 50 mg 3 β ,17-Diacetoxy-5 α -androst-16-en 18 mg (45,6%) 5 α -Androstan-3 β -16 α -17 β -triole (**15**), Fp: 259,5–260,5 °C (Aceton + Methanol); Lit.: 257,5–259 °C²⁷ und 260–262 °C;⁸ R_f-Wert: 0,24; [C₁₉H₃₂O₃]⁺; Ber.: 308,2351; Gef.: 308,2359 (MS).

(a₂) Ebenso wurden aus 60 mg 3 α ,17-Diacetoxy-5 β -androst-16-en (**2**) 18,9 mg (38,2%) 5 β -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triole (**4**) erhalten Fp: 271–274 °C (Aceton + Cyclohexan); Lit.: 276–278 °C;²⁷ R_f-Wert: 0,12; [C₁₉H₃₂O₃]⁺; Ber.: 308,2351; Gef.: 308,2360 (MS).

(b) Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert, der getrocknete Rückstand in einer Soxhlet-Apparatur 4 Tage mit Ether extrahiert und das erhaltene Steroidgemisch DC-getrennt.

(b₁) Aus 75 mg 3 α ,17-Diacetoxy-5 α -androst-16-en wurden 36,1 mg (58,6%) 5 α -Androstan-3 α ,16 α ,17 β -triole (**14**) erhalten.

Fp: 253–255 °C (Methanol + Ether); Lit.: 254–256 °C;²⁷ R_T -Wert: 0,20; $[C_{19}H_{32}O_3]^+$; Ber.: 308,2351; Gef.: 308,2335 (MS).

(b₂) Ebenso wurden aus 50 mg 3 β ,17-Diacetoxy-5 β -androstan-16-en 23,2 mg (56,4%) 5 β -Androstan-3 β ,16 α ,17 β -triol (**18**) erhalten.

Fp: 254–255 °C (Aceton + Cyclohexan); R_T -Wert: 0,25; $[C_{19}H_{32}O_3]^+$; Ber.: 308,2351; Gef.: 308,2336 (MS).

3 α ,16 β -Diacetoxy-5 β -androstan-17-on (**5**) aus 3 α ,17-Diacetoxy-5 β -androstan-16-en (**2**).⁹ 120 mg (**2**) wurden in 2,8 ml Eisessig und 0,2 ml Essigsäureanhydrid gelöst und mit 200 mg frisch umkristallisiertem Bleitetraacetat versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand mit Ether aufgenommen und mit NaHCO₃-Lösung sowie mit Wasser gewaschen. Es wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand DC-getrennt. Nach dem Eluieren ergaben sich 74,4 mg (58%) 3 α ,16 β -Diacetoxy-5 β -androstan-17-on (**5**). Das ölige Produkt konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden.

$[C_{23}H_{34}O_5]^+$; Ber.: 390,2406; Gef.: 390,2400 (MS).

MS (rel. Int.): 390 (15, $[M]^+$), 348 (2, $[M - H_2C = C = O]^+$), 330 (6, $[M - CH_3CO_2H]^+$), 270 (16, $[M - (2 \times CH_3CO_2H)]^+$), 242 (2), 259 (4), 216 (55, $[C_{16}H_{24}]^+$), 215 (21), 201 (19), 174 (4), 162 (14), 43 (100, $[CH_3CO]^+$).

NMR (CDCl₃): δ = 0,95, 0,97 (je 3 H, s, 10 β -CH₃ und 13 β -CH₃); 2,01, 2,10 (je 3 H, s, 3 α - und 16 β -O₂CCH₃); 4,73 (1 H, m, breit, 3 β -H); 4,99 ppm (1 H, t, J = 8 Hz, 16 α -H).

3 α ,17 β -Dihydroxy-5 β -androstan-16-on (**6**) aus 3 α ,16 β -Diacetoxy-5 β -androstan-17-on (**5**). Durch die methanolische Lösung von (**5**) und durch eine Lösung von 0,2 n KOH in 70%igem wäßrigen Methanol wurde 10 min Stickstoff geleitet. Dann wurde die KOH-Lösung in zehnfachem Überschuß zu der Steroidlösung gegeben und das Reaktionsgemisch 12 h unter Stickstoff aufbewahrt. Nach dem Neutralisieren mit verdünnter Salzsäure wurde die Lösung eingengt, mit Essigester verdünnt, die organische Phase mit NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert.

Ausbeute: 45,5 mg (96%) (**6**).

Fp: 199–201 °C (Benzol + Cyclohexan); R_T -Wert: 0,29 (Ether + 2% Methanol); $[C_{19}H_{30}O_3]$; Ber.: 306,2194; Gef.: 306,2205 (MS).

NMR (CDCl₃): δ = 0,76 (3 H, s, 10 β -CH₃); 1,00 (3 H, s, 13 β -CH₃); 3,66 (1 H, m, breit, 3 β -H); 3,80 (1 H, s, 17 α -H).

5 β -Androstan-3 α ,16 β ,17 β -triol (**7**) aus 3 α ,17 β -Dihydroxy-5 β -androstan-16-on (**6**).²⁸ Einer Lösung von 44 mg (**6**) in 6 ml Ethanol wurden unter Rühren 10 mg NaBH₄ in 0,6 ml Wasser zugefügt. Nach 2 h wurde überschüssiges Hydrid mit Essigsäure zerstört, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand DC-getrennt. Es wurden 27,5 mg (62,5%) (**7**) und aus der untersten Zone 5 mg (11%) 16 α -Hydroxyisomeres (**4**) isoliert.

Fp: 245–247 °C (Methanol + Aceton); Lit.: 249–250 °C;²⁷ R_T -Wert: 0,37; $[C_{19}H_{32}O_3]^+$; Ber.: 308,2351; Gef.: 308,2348 (MS).

Weitere R_T -Werte: 5 α -Androstan-3 α ,16 β ,17 β -triol (**16**): 0,50; 5 β -Androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol (**19**): 0,43.

17 α -Deutero-5 α -androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol (**11**) aus 3 β ,16 β -Diacetoxy-5 α -androstan-17-on (**10**). 20 mg (**10**) wurden in Ethanol gelöst und bei 0 °C unter Rühren mit 5 mg NaBD₄ in 0,3 ml Wasser versetzt. Nach 2 h wurde die Reaktion mit einem Tropfen Essigsäure gestoppt und über Nacht mit 10 ml 0,2 n KOH in 70%igem wäßrigen Methanol umgesetzt. Dann wurde neutralisiert, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand DC-getrennt. Ausbeute nach dem Eluieren: 10,6 mg (68%) (**11**).

Fp: 249–251 °C (Aceton + Methanol).

MS (rel. Int.): 309 (100, $[M]^+$), 278 (—), 277 (7), 276 (13), 247 (6), 246 (15), 220 (18), 11 (39), 110 (15), 109 (36), 108 (55), 107 (73), 85 (32), 84 (5), 61 (18).

16 α -Deutero-5 α -androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol (**9**) aus 3 β ,17 β -Dihydroxy-5 α -androstan-16-on (**8**). 18 mg des Ketons (**8**) wurden wie bei Verbindung (**10**) beschrieben mit Natriumbordeuterid reduziert und DC-getrennt.

Ausbeute: 12,8 mg (71,5%) (**9**).

Fp: 251–253 °C (Aceton + Methanol).

MS (rel. Int.): 309 (100, $[M]^+$), 278 (3), 277 (3), 276 (11), 247 (3), 246 (17), 220 (13), 111 (33), 110 (13), 109 (34), 108 (52), 107 (74), 85 (19), 84 (11), 61 (11), 60 (2).

15,15,17 α -Trideutero-5 α -androstan-3 β ,16 β -17 β -triol (**13**) aus 15,15,17 α -Trideutero-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-16-on (**12**):¹² 24 mg des Ketons (**12**) (nur die 17 α -Position ist vollständig deuteriert, da das Kernresonanzsignal für das 17 α -Proton von (**12**) bei $\delta = 3,96$ ppm verschwindet) wurden wie Verbindung **10** mit Natriumborbordeuterid zu 17,5 mg (73%) Androstantriol (18% 17 α -Deutero-, 61% 15,17 α -Dideutero- und 21% 15,15,17 α -Trideutero-5 α -androstan-3 β ,16 β ,17 β -triol¹⁹) reduziert.

Fp: 246–248 °C (Aceton + Methanol).

MS (rel. Int.): 312 (5), 311 (47), 310 (84), 309 (23), 278 (7), 277 (12), 248 (11), 247 (18), 246 (2), 220 (13), 113 (2), 112 (17), 111 (26), 110 (16), 109 (40), 108 (68), 107 (77), 86 (7), 85 (22), 84 (9), 83 (23), 82 (22), 81 (62), 61 (16), 60 (3).

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der chemischen Industrie und der Schering AG Berlin danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen. Herrn Dr. H. Obermann danken wir für die Überlassung von 3 α - und 3 β ,17-Diacetoxy-5 α -androst-16-en, sowie weiterer analytischer Proben.

LITERATURVERZEICHNIS

1. XIV. Mitt.: H. Richter und G. Spiteller, *Monatsh. Chem.* im Druck.
2. O. A. Jänne und R. V. Vihko in V. H. T. James und L. Martini, *Excerpta Med.* 219 (1971).
3. B. W. L. Brooksbank, D. A. A. Wilson und J.-A. Gustafsson, *Steroid Lipids Res.* **3**, 263 (1972).
4. J.-A. Gustafsson, *Biochim. Biophys. Acta* **296**, 179 (1973).
5. H. Ludwig und G. Spiteller, *Chem. Ber.*, im Druck.
6. L. J. Chinn und L. M. Hofman, *J. Med. Chem.* **16**, 839 (1973).
7. M. G. Combe, W. A. Denny, G. D. Meakins, Y. Morisawa und E. E. Richards, *J. Chem. Soc. C* 2300 (1971).
8. N. S. Leeds, D. K. Fukushima und T. F. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 2943 (1954).
9. W. S. Johnson, B. Gastambide und R. Pappo, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 1991 (1957).
10. J. Fishman, *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 6143 (1960).
11. T. Aoki, H. Yamamura, K. Takei und H. Mori, *Chem. Pharm. Bull.* **12**, 808 (1967).
12. Wird demnächst veröffentlicht.
13. H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Tetrahedron* **27**, 1093 (1971).
14. E. Zietz und G. Spiteller, *Tetrahedron* **30**, 585 (1974).
15. B. Stock und G. Spiteller, *Org. Mass Spectrom.* **9**, 888 (1974).
16. M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Org. Mass Spectrom.* **1**, 231 (1968).
17. T. Laatikainen, *Steroids* **15**, 139 (1970).
18. M. E. Manson, C. H. L. Shakleton, F. L. Mitchell, J.-A. Gustafsson und S. Sjövall, *Steroids* **15**, 53 (1970).
19. C. H. L. Shakleton und J.-A. Gustafsson, *Steroids* **18**, 181 (1971).
20. H. Obermann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, *Tetrahedron* **27**, 1747 (1971).
21. H. Egger und G. Spiteller, *Monatsh. Chem.* **97**, 579 (1966).
22. D. H. Smith, C. Djerassi, K. K. Maurer und U. Rapp, *J. Am. Chem. Soc.* **96**, 3482 (1974).
23. M. Ende und G. Spiteller, *Org. Mass Spectrom.* **10**, 200 (1975).
24. Göttinger Spektrenkartei.
25. Die Massenspektren wurden der Göttinger Massenspektrenkartei entnommen. Die Substanzen sind von Herrn Obermann dargestellt worden.
26. K. Randerath, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962.
27. S. Liebermann, B. Prartz, P. Humphries und K. Dobriner, *J. Biol. Chem.* **204**, 491 (1953).
28. R. M. Dodson und S. Mizuba, *J. Org. Chem.* **27**, 698 (1962).
29. H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Band 1, Holden-Day, San Francisco, 1964.