

hielten die Kristalle vom Schmp. 238~243°. $[\alpha]_D^{25} + 160^\circ (c=0.7, \text{CHCl}_3)$. Zur Analyse wurden sie bei 60° im Vakuum getrocknet. $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ —Ber.: C, 75.91; H, 8.92. Gef.: C, 75.61; H, 8.60.

3,3:21,21-Bis(äthylendioxy)-20 β -hydroxypregn-5-en (VI)—Zu einer Lösung von 350 mg (II) in 30 ccm EtOH und 30 ccm Tetrahydrofuran wurden 3 ccm 2.5-proz. NaOH und 500 mg NaBH₄ gegeben und die Mischung 6 Std. lang unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von 20 ccm H₂O wurde die Mischung im Vakuum eingengt und die abgeschiedene Kristalle abfiltriert. Nach Umkristallisation aus AcOEt zeigten sie Schmp. 180~182° (250 mg), $[\alpha]_D^{25} - 47.2 (c=0.89, \text{CHCl}_3)$. Zur Analyse wurden sie bei 60° im Hochvakuum getrocknet. $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$ —Ber.: C, 71.74; H, 9.15. Gef.: C, 71.42; H, 9.14. IR (in Nujol): 3630 cm⁻¹ (HO).

21,21-Äthylendioxy-3-oxo-20 β -hydroxypregn-4-en (VII)—Zu einer Lösung von 100 mg (VI) in 30 ccm MeOH wurden 1.1 ccm 10-proz. H₂SO₄ gegeben und 20 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Neutralisieren mit NaHCO₃-Lösung wurde MeOH im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit H₂O versetzt und ausgeäthert. Die Äther-Auszüge wurden nach Trocknen mit Na₂SO₄ eingedampft und der Rückstand an Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-AcOEt-Gemisch (9:1) eluierten Fraktionen wurden aus Äther umkristallisiert, wobei 70 mg (VII) vom Schmp. 133~135° erhalten wurden. $[\alpha]_D^{25} + 73^\circ (c=1.02, \text{CHCl}_3)$. Zur Analyse wurden sie bei 40° im Hochvakuum getrocknet. $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$ —Ber.: C, 73.76; H, 9.15. Gef.: C, 73.37; H, 9.35. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 242 m μ (ϵ 18400). IR (in Nujol) cm⁻¹: 3646 (HO), 1662 und 1617 (4-en-3-on).

Zusammenfassung

Die Ketalisierung von Reichsteins Substanz S mit 2-Methyl-2-äthyl-1,3-dioxolan in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure führte in 34-proz. Ausbeute zu 3,3; 21,21-Bis-(Äthylendioxy)-20-oxopregn-5-en; letztere wurde durch Verseifung zu 17 β -Glyoxylylandrost-4-en-3-on übergeführt.

(Eingegangen am 11. Mai, 1959)

UDC 547.92.07

97. Kyosuke Tsuda, Eiji Ohki und Junnosuke Suzuki: Untersuchungen über Steroide. XIV.¹⁾ Reduktion von Reichsteins Substanz S mittels Zink in Essigsäure.

(Institut für angewandte Mikrobiologie,*¹ Universität Tokio)

Es war bekannt, dass bei der Einwirkungen von Zink in Essigsäure auf Steroid-Ketol bzw. -Ketolacetate unter Abspaltungen von HO- bzw. AcO-Reste die entsprechenden Steroid-Ketone vorwiegend gewonnen werden, nämlich bei 2-Acetoxy-3-oxo-,²⁾ 5-Hydroxy-6-oxo-,³⁾ 6-Hydroxy-3-oxo-4-en,⁴⁾ 11-Hydroxy-12-oxo-,⁵⁾ 12-Hydroxy-11-oxo-⁵⁻⁷⁾ und sogar 17-Hydroxy-20-oxo-steroide.^{8,9)}

Wir untersuchten die analoge Reaktion am Reichsteins Substanz S (17 α ,21-Dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en) (I). Bei der Reduktion nach der Methode von Norymberski⁹⁾ erhielten wir ein Gemisch, das neben dem früher von diesem Autor erhaltenen Reaktionsprodukt,

*¹ Yayoi-cho, Bunkyo-ku, Tokio (津田恭介, 大木英二, 鈴木準之助).

1) XIII. Mitt. K. Tsuda, N. Ikekawa, S. Nozoe: Dieses Bulletin, **7**, 519(1959).

2) F. Sondheimer, St. Kaufmann, J. Romo, H. Martinez, R. Rosenkranz: J. Am. Chem. Soc., **75**, 4712(1953).

3) D. H. R. Barton, C. H. Robinson: J. Chem. Soc., **1954**, 3045.

4) L. F. Fieser: J. Am. Chem. Soc., **75**, 4377(1953).

5) R. S. Rosenfeld, T. F. Gallagher: *Ibid.*, **77**, 4367(1955).

6) M. Roth, G. Sancy, R. Anliker, O. Jeger, H. Heusser: Helv. Chim. Acta, **36**, 1909(1953).

7) J. H. Chapman, J. Elks, G. H. Phillips, L. J. Wyman: J. Chem. Soc., **1956**, 4344.

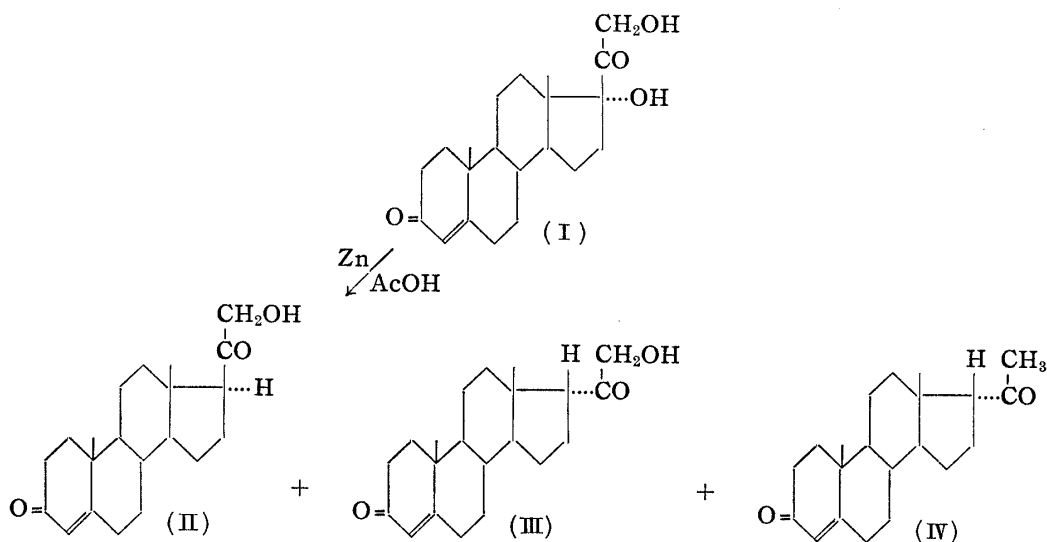
8) J. K. Norymberski: *Ibid.*, **1956**, 517.

9) R. S. Rosenfeld: J. Am. Chem. Soc., **79**, 5540(1957).

i. e. Cortexon (21-Hydroxy-3,20-dioxopregn-4-en) (II), noch zwei 17-*iso*-Steroide, i. e. 17-Isocortexon (III)¹⁰⁾ und 17-Isoprogesteron (IV)¹¹⁾ enthielt: Ausbeute von (II), (III) und (IV) betragen je 42%, 2% und 1%. Die Trennung dieser Komponenten konnte nach Chromatographie an Silicagel erreicht werden und die so erhaltene 17-*iso*-Steroide liessen sich durch Erhitzen mit HCl-Methanol in die 17-*normal*-Steroide isomerisieren, wodurch ihre Konstitutionen bewiesen sind. Bemerkenswert ist, dass trotz sorgfältiger Trennungsversuche kein Progesteron als des Reaktionsprodukt isoliert werden konnte.

Wenn diese Reaktion nach Reduktionsmechanismus von Woodward^{5,12)} verlief, so müsste immer nur das 17-*normal*-Steroid gebildet werden, da das 17-*normal*-Isomere stabiler als die 17-*iso*-Isomere ist. Bildung von 17-*iso*-Steroide suggeriert also, dass die Reduktion von 17,21-Dihydroxy-20-oxo-Gruppierung mittels Zink-Essigsäure nach anderem Mechanismus verlief.

Im IR-Spektren der 17-Isomere beobachteten wir folgende interessante Tatsache: Während Progesteron und Cortexon im IR wie von Jones¹³⁾ gezeigt wurde, die für angulare Methyl-Gruppe charakteristische Banden bei 1385~1388 cm⁻¹ und bei 1373~1374 cm⁻¹ besitzen, ist im IR der 17-*iso*-Reihe, i. e. (III) und (IV), nur eine der beiden Banden bei 1379 cm⁻¹ sichtbar. Diese Erscheinung rührt von der Inversion der Seitenkette an C-17 her; so dass die "Nonbonded-Interaction" der angularen Methyl an C-13 mit der Seitenkette an C-17 durch Umkehr von letzteren vermindert werden müsste.



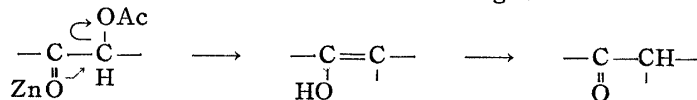
Experimentell*2

Zu einer Lösung von 10.40 g Reichsteins Substanz S (I) in 183 ccm 50-proz. AcOH wurden 52.5 g aktiviertes Zn*3 gegeben und 90 Min. zur Siedehitze gebracht. Hierauf wurde die Lösung vom Zn abfiltriert, das mit MeOH und dann mit AcOEt nachgewaschen wurde, und nach Zugabe vom Wasser

10) C.W. Shoppee: Helv. Chim. Acta, **23**, 925(1940).

11) A. Butenandt: Ber., **72**, 1112(1939).

12) R.B. Woodward, F. Sondheimer, O. Traub, K. Heusler, W.M. McClamor: J. Am. Chem. Soc., **74**, 4225 (1952). Demnach verläuft die Reaktion wie folgt:



13) R.N. Jones, A.R.H. Cole: J. Am. Chem. Soc., **74**, 5648(1952).

*2) Alle Schmp. sind nicht korrigiert. Die Analysen und IR-Messungen wurden in unseren Speziallaboratorien ausgeführt. Dafür danken wir Frl. H. Yamanouchi, K. Hayashi und N. Kurosawa.

*3) Käuflicher Zn-Staub wurde 2 Min. mit 0.5N HCl geschüttelt. Hierauf wurde er abgesaugt, mit Wasser gewaschen, dann zur Entwässerung mit Aceton behandelt und zur Verfügung gestellt.

im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in CH_2Cl_2 gelöst, die Lösung mit 8-proz. NaHCO_3 -Lösung und dann mit Wasser gewaschen und nachdem Trocknen mit Na_2SO_4 im Vakuum eingedampft, wobei 10.45 g von orangegelbem Öl gewonnen wurde. Diesen chromatographierte man in 30 ccm Petroläther-Benzol (1:2) an 60 g Silicagel, wobei Fraktionen von je 60 ccm bzw. 120 ccm getrennt wurden. Das Resultat wird in Tabelle I gezeigt.

TABELLE I.

Fraktion Nr.	Eluierungsmittel (ccm)		Eluate (g)	
1	Petr. äther-Benzol (1:5)	60	0.31	Öl
2	Petr. äther-Benzol (1:1.1)	60	0.99	"
3	Benzol	60	2.11	"
4	Benzol	120	1.50	Kristalle
5	Benzol- CH_2Cl_2 (3:1)	120	1.07	"
6	Benzol- CH_2Cl_2 (1:1)	120	1.19	"
7	CH_2Cl_2	120	0.87	"
8	CH_2Cl_2 -AcOEt (1:1)	120	1.37	Öl
9	AcOEt	120	0.33	"
10	EtOH	120	0.30	"

Die Fraktionen 1~2 wurden in 30 ccm Petroläther-Benzol (2:1) gelöst und an 20 g Silicagel chromatographiert. Zunächst durch Eluieren mit Petroläther (von 2:1 bis auf 1:2) liefen die ölige Fraktionen ab und die nachfolgende Benzol-Eluate gaben 150 mg Kristalle, die nach Umkristallisieren aus Äther-Petroläther bei 138~142° schmolzen. 110 mg von 17-Isoprogesteron (IV) wurden hierbei erhalten. $[\alpha]_D^{10} 0^\circ (c=0.9, \text{CHCl}_3)$. Zur Analyse wurden sie bei 60° im Hochvakuum getrocknet. $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$ -Ber.: C, 80.21; H, 9.62. Gef.: C, 80.11; H, 9.58. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240 m μ (ϵ 16200). IR cm^{-1} (in CHCl_3): 1703 (20-on), 1666 und 1617 (4-en-3-on); 1379 (angular CH_3); 1356 (21- CH_3).

16 mg (IV) wurden in 3 ccm EtOH gelöst, mit 0.5 ccm konz. HCl versetzt und 15 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe vom Wasser wurde die Lösung mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt und die CH_2Cl_2 -Auszüge nach Waschen mit NaHCO_3 -Lösung und dann mit Wasser im Vakuum eingedampft. Die hierbei erhaltene Kristalle zeigten nach Umkristallisieren aus Äther, Schmp. 122~125° und waren identisch mit Progesteron.

Fraktionen 3~7 ergaben nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther Kristalle vom Schmp. 138~140°, die sich nach Mischschmp. und IR-Spektrum als identisch mit Cortexon (II) erwiesen. Ausbeute: 2.02 g. $[\alpha]_D^{15} +180^\circ (c=0.9, \text{CHCl}_3)$. Zur Analyse wurden sie bei 80° im Hochvakuum getrocknet. $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_3$ -Ber.: C, 76.32; H, 9.15. Gef.: C, 76.32; H, 9.17. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240 m μ (ϵ 16200). IR cm^{-1} (in CHCl_3): 3470 (21-ol), 1707 (20-on), 1664 und 1617 (4-en-3-on), 1388 und 1374 (angular CH_3).

50 mg (II) wurden mit Ac_2O -Pyridin acetyliert. Nach der Aufarbeitung in üblicher Weise wurde das 21-Acetat von (II) erhalten. Schmp. 154~158° (aus EtOH); $[\alpha]_D^{20} +172^\circ (c=1.0, \text{CHCl}_3)$. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 240 m μ (ϵ 15300). IR cm^{-1} (in CHCl_3): 1755 (21-Acetyl), 1732 (20-on), 1667 und 1620 (4-en-3-on).

Die Mutterlauge von (II) wurde eingedampft und der Rückstand mit Ac_2O und Pyridin behandelt. Das hierbei erhaltene Acetat-Gemisch wurde aus Aceton umkristallisiert, wobei 2.42 g von (II)-Acetat gewonnen wurde. Schmp. 155~158°. Aus dieser Mutterlauge wurden andere Kristalle vom Schmp. 167~172° erhalten, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther 0.24 g 17-Isocortexon-21-acetat (III-Acetat) lieferten. Schmp. 172~173°, $[\alpha]_D^{10} -26^\circ (c=1.0, \text{CHCl}_3)$. $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$ -Ber.: C, 74.16; H, 8.66. Gef.: C, 73.84; H, 8.63. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240 m μ (ϵ 18600). IR cm^{-1} (in CHCl_3): 1750 (21-Acetyl), 1730 (20-on), 1666 und 1618 (4-en-3-on).

20 mg (III-Acetat) wurden 30 Min. mit 0.5 ccm EtOH und 0.5 ccm konz. HCl erhitzt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde das Produkt mit Ac_2O und Pyridin acetyliert. Das Acetat schmolz bei 154~157° nach Umlösen aus EtOH und war identisch mit Cortexon-21-acetat.

Andererseits wurden 90 mg (III-Acetat) in 10 ccm MeOH gelöst, mit der Lösung von 90 mg KHCO_3 in 2 ccm Wasser versetzt und 18 Std. lang bei Zimmertemperatur stehengelassen. Der nach Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand wurde mit Wasser versetzt und die abgeschiedene Kristalle abfiltriert. Hierbei wurden 79 mg von 17-Isocortexon (III) erhalten. Sie zeigten nach Umlösen aus Aceton Schmp. 175~179°, $[\alpha]_D^{15} -5.2^\circ (c=0.7, \text{CHCl}_3)$. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240 m μ (ϵ 12600). IR cm^{-1} (in CHCl_3): 3495 (21-ol), 1714 (20-on), 1657 und 1617 (4-en-3-on), 1380 (angular CH_3).

Fraktionen 6~7 ergaben, wie oben erwähnt, bei der Umkristallisation das (II). Andererseits lieferte der aus der Mutterlauge durch Abdampfen des Lösungsmittels gewonnene Rückstand nach Zugabe von Aceton eine amorphe Masse, die durch mehrmalige Umkristallisation aus EtOH Kristalle vom Schmp. 226~230° (100 mg) ergab. Sie waren identisch mit Acetat von (I).

Aus Fraktionen 8~10 ergaben sich keine Kristalle.

Zusammenfassung

Beobachtungen bei der Reduktion von Reichsteins Substanz S (I) mittels Zink werden beschrieben. Hierbei können Cortexon (II), 17-Isocortexon (III) und 17-Isoprogesteron (IV) entstehen. Diese Ergebnisse werden diskutiert.

(Eingegangen am 18. Mai, 1959)

UDC 547.478.6 : 576.852.211.095.18

**98. Hyozo Taniyama, Fumihiko Miyoshi, Yasuo Sano, Soichi Kubota,*¹
Eiichi Sakakibara,*² and Homare Uchida*³ : Synthesis and
Antibacterial Activity of Cystine Derivatives. II.*⁴**

(*Pharmaceutical Faculty, University of Osaka,*¹ Osaka University of Liberal Arts
and Education,*² and National Sanatorium Toneyama Hospital*³*)

For the purpose of preparing chemotherapeutics with specificity to species, anilide and hydrazide derivatives of L-cystine and L-cysteine were prepared and their antibacterial activity was reported in the preceding paper.¹⁾ Interesting results were found in their antibacterial action against tubercle bacilli; the cystine derivatives with amino group substituted with benzyloxycarbonyl group did not show practically any antitubercular action, with the exception of isonicotinoylhydrazide condensate and phenylhydrazide condensate, whereas L-cystine dianilide, by liberating this benzyloxycarbonyl group, showed a tremendous increase in the activity.

From these experimental data, it was presumed that L-cystine dihydrazide derivatives, especially isonicotinoylhydrazide condensate and phenylhydrazide condensate, should show a very strong activity by liberating the group. An attempt was made but in vain to prepare these hydrazide derivatives by the application of du Vigneaud's cystine peptide synthesis.²⁾ In the present series, these compounds were prepared successfully by a new route.³⁾

Further point to be noted was the antitubercular action of L-cystine bis(*p*-alkoxyanilide) derivatives. L-Cystine bis(*p*-methoxyanilide) inhibited the growth of tubercle bacilli in a concentration of 30 γ /cc. and L-cystine bis(*p*-ethoxyanilide) in 3~10 γ /cc. Therefore, it was expected that the *p*-propoxyanilide, *p*-butoxyanilide, *p*-pentyloxyanilide, and *p*-hexyloxyanilide should be stronger in such activity. These compounds were also prepared.

L-Cystine bis(*p*-propoxyanilide)(IX) and L-cystine bis(*p*-butoxyanilide)(X) were prepared by du Vigneaud's method,²⁾ starting with bis(benzyloxycarbonyl)-L-cystine, which was derived to the acid chloride with phosphorus pentachloride, reacted with *p*-propoxyaniline or *p*-butoxyaniline, and the condensation product reduced with sodium in liquid ammonia, with subsequent liberation of the benzyloxycarbonyl group (Chart 1). In the

*¹ Hotarugaike, Toyonaka, Osaka-fu (谷山兵三, 三好文彦, 佐野安雄, 久保田聰一).

*² Tennoji-ku, Osaka (榊原栄一).

*³ Hotarugaike, Toyonaka, Osaka-fu (内田 誉).

*⁴ Paper read at the 78th General Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Nagoya, April, 1958.

1) Part I: *Yakugaku Zasshi*, **76**, 1304(1956).

2) H. S. Loring, V. du Vigneaud: *J. Biol. Chem.*, **111**, 385(1935).

3) F. E. King, J. W. Clark-Lewis, R. Wade: *J. Chem. Soc.*, **1957**, 880. Recently, J. C. Sheehan and D. H. Yang also reported the same method for cysteinyl peptide (*J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 1158 (1958)).