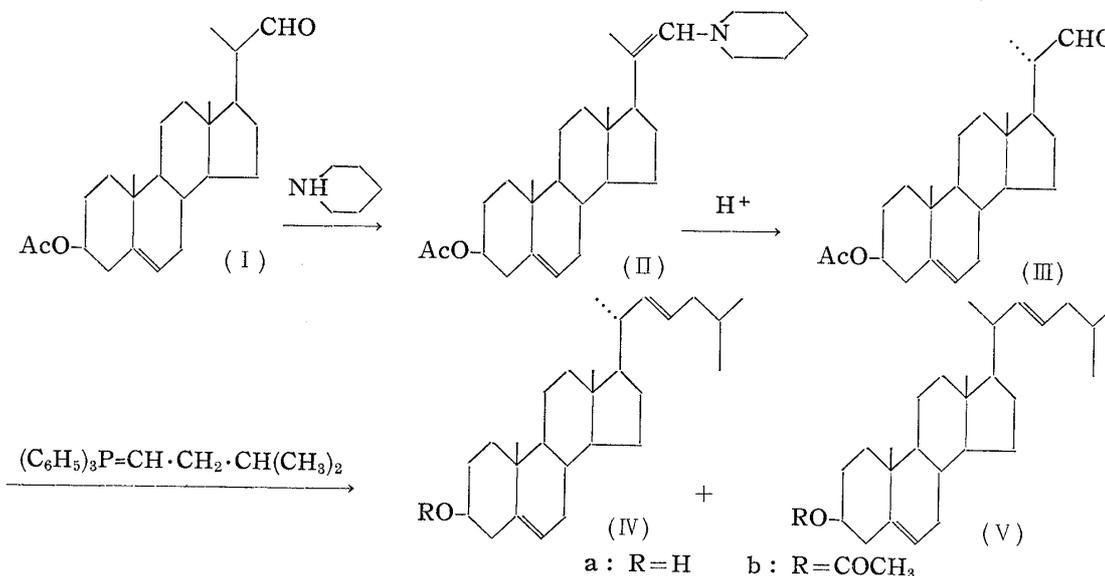


84. **Kyosuke Tsuda***¹ und **Kiyoshi Sakai***²: Untersuchungen über Steroide. XXII.¹⁾
Versuche zur Synthese von 20-Iso-22-dehydrocholesterin.

(Institut für angewandte Mikrobiologie,*¹ Universität Tokio, und
Takamine Forschungslaboratorium, Sankyo A.G.*²)

Was das 22-Dehydrocholesterin betrifft, so ist über die synthetischen Herstellungsverfahren,²⁾ sowie auch über die Isolierung aus Pflanzen³⁾ bzw. Tieren⁴⁾ bereits berichtet worden. Eine Verbindung, welche sich von der oben genannten Verbindung nur durch die Konfiguration an C-20 unterscheidet, ist aber in den Literaturen noch nicht bekannt. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Synthese der letzteren Verbindung.

Das 20-Iso-22-dehydrocholesterin (IVa) läßt sich nach der Methode von Wittig⁵⁾ über das 3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al (III) mit Triphenylisopentylidenphosphoran gewinnen. Dieses 20-Iso-Aldehyd wurde nach der C-20-Epimerisierungsmethode,⁶⁾ die zur Herstellung von 20-Iso-3-oxo-23,24-dinorchol-4-en-22-al verwendet wurde, durch die hydrolytische Abspaltung des Piperidin-Moleküls von 3 β -Acetoxy-20-methyl-21-piperidinopregna-5,20-dien (II) hergestellt. Dabei beobachteten wir, daß die 20-iso-Form des 3 β -Acetoxy-bisnorchol-5-en-22-als im Vergleich zur 20-normal-Form⁷⁾ die Schwingungsebene des polarisierten Lichts 20° nach rechts dreht, d. h. $\Delta M_D +74^\circ$. Dieses optische Verhältnis stimmt mit demjenigen der beiden C-20 Epimere von 3-Oxo-23,24-dinorchol-4-en-22-al⁶⁾ überein, wobei ein ΔM_D -Wert von $+75^\circ$ festgestellt wurde. Beide Formen zeigten bei der Mischprobe eine starke Schmelzpunkt-Depression, dagegen in Chloroform oder Schwefelkohlenstoff das gleiche Infrarot-Spektrum.



*¹ Yayoi-cho, Bunkyo-ku, Tokio (津田恭介).

*² Nishishinagawa, Shinagawa-ku, Tokio (酒井 淨).

1) XXI. Mitt. K. Tsuda, S. Nozoe: *Dieses Bulletin*, **8**, 1128 (1960).

2) W. Bergmann, J.P. Dusza: *J. Org. Chem.*, **23**, 1245 (1958).

3) K. Tsuda, K. Sakai, T. Tanabe, Y. Kishida: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1442 (1960).

4) A.J. Clark, K. Bloch: *J. Biol. Chem.*, **234**, 2589 (1959).

5) G. Wittig, U. Schöllkopf: *Chem. Ber.*, **87**, 1318 (1954).

6) M.E. Herr, F.W. Heyl: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3627 (1952).

7) A.P. Centollela, F.W. Heyl, M.E. Herr: *Ibid.*, **70**, 2953 (1948); F.W. Heyl, A.P. Centollela, M.E. Herr: *Ibid.*, **69**, 1957 (1947).

Das 3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al (III) wurde nach Wittig⁵⁾ in das entsprechende C-22-Isopenten-Derivat verwandelt, dessen Hydrolyse das rohe 20-Iso-22-dehydrocholesterin ergab.

Zur weiteren Reinigung wurde dieses rohe Verseifungsprodukt mit Alumina chromatographiert, wobei ein Gemisch von Hexan-Benzol (1:1) als Eluierungsmittel verwendet wurde. Aus der ersten Fraktion ergab sich eine Verbindung vom Schmp. 154~155°, welche sich nach allen Daten als das gereinigte 20-Iso-22-dehydrocholesterin (IVa) erwies. Aus der letzten Hälfte der Fraktionen konnte noch eine Verbindung erhalten werden. Diese letztere schmolz bei 134.5~135.5° und erwies sich nach physikalischen Konstanten als das 22-Dehydrocholesterin⁹⁾ (Va). Wir konnten diesmal das von uns aus roten Algen gewonnene 22-Dehydrocholesterin⁹⁾ mit dem synthetischen Präparat direkt vergleichen und beweisen, daß beide Präparate identisch sind. Schmelzpunkt und optische Drehung beider C-20 Epimere werden in Tabelle I gezeigt.

TABELLE I. Vergleich der beiden C-20 Epimere des 22-Dehydrocholesterins

| Substanz | 20-iso | | 20-normal | |
|----------|-------------|-----------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| | Schmp. (°C) | $[\alpha]_D$ (CHCl ₃) | Schmp. (°C) | $[\alpha]_D$ (CHCl ₃) |
| Sterin | 154.5~155.5 | -63.1° | 134.5~135.5 | -56.9° |
| Acetat | 107~108 | -66.6° | 127~128 | -61.1° |
| Benzoat | 164.5~165.5 | -33.0° | 145~146* | -29.0° |

* Beim Schmelzen fluoresziert es.

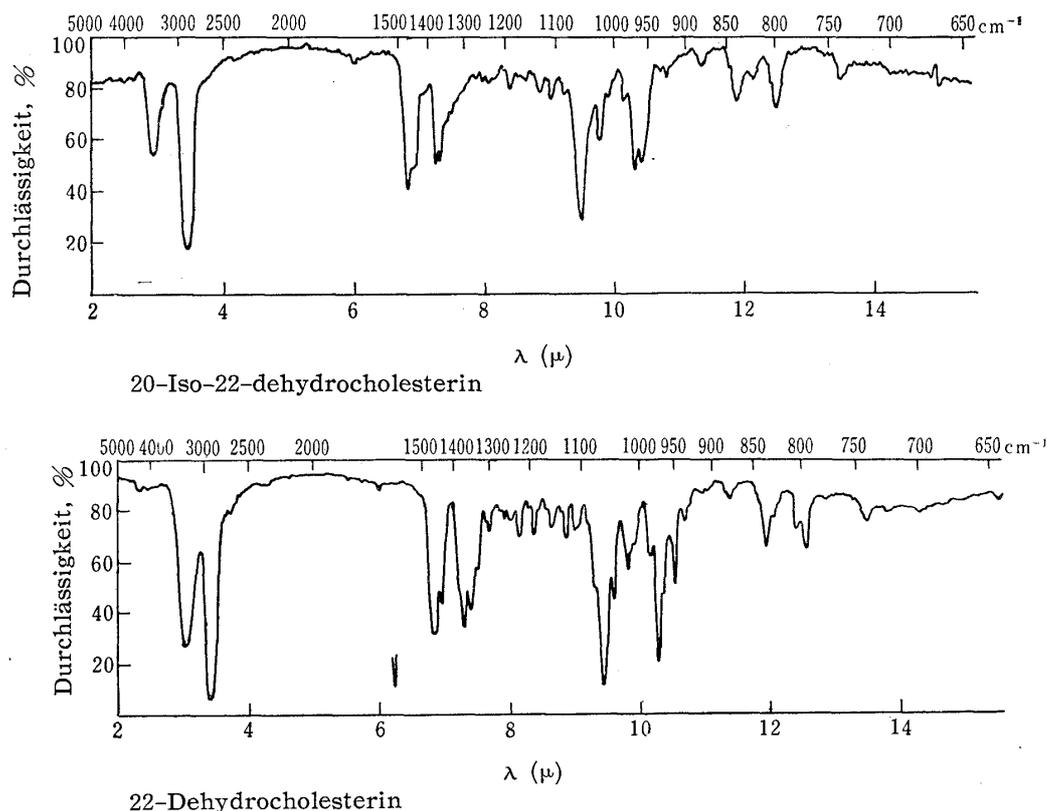


Fig. 1. Infrarot-Spektren der beiden C-20 Epimere des 22-Dehydrocholesterins (in KBr)

Der Einfluß einer Doppelbindung in der Seitenkette zwischen C-22 und C-23 wird aus dem Vergleich der M_D -Werte für 20-Iso-22-dehydrocholesterin mit dem von Sondheimer⁸⁾ bzw. Hayatsu⁹⁾ dargestellten 20-Iso-cholesterin ersichtlich. In diesem Fall bewirkt die

8) F. Sondheimer, R. Mechoulam: J. Am. Chem. Soc., **80**, 3087 (1958).

9) R. Hayatsu: Dieses Bulletin, **5**, 452 (1957); siehe auch K. Tsuda, R. Hayatsu, Y. Kishida, S. Akagi: J. Am. Chem. Soc., **80**, 921 (1958).

Doppelbindung eine starke Linksverschiebung, d. h. ΔM_D -70 zu -74° , die sich auch bei Sterinen mit Doppelbindung zwischen C-22 und C-23 wiederfindet.¹⁰⁾

Das Infrarot-Spektrum des 20-Iso-22-dehydrocholesterins (Abbild) zeigt die charakteristischen Bande der 22-*trans*-Doppelbindung bei 975 cm^{-1} . Damit ist bewiesen, daß bei der Wittig-Reaktion, wie Bergmann²⁾ bereits bemerkt hat, sich vorzugsweise die *trans*-Form der Doppelbindung bildet.

Bei diesem Herstellungsversuch ergaben sich, wie oben erwähnt, die beiden C-20 Epimere in ungefähr gleicher Menge. Was die Bildung beider Epimere betrifft, so können folgende zwei Verläufe in Betracht gezogen werden: 1) Bei der Wittig-Reaktion von 3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al epimerisiert die Methyl-Gruppe an C-20.*³ 2) Das 3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al, welches nach Schmelzpunkt, Infrarot-Spektrum und opt. Drehung schon sehr rein aussieht, stellt ein Gemisch beider Epimere an C-20, welches durch Umkristallisation nicht getrennt werden kann, dar.

Diese beiden Verläufe sind noch nicht bewiesen, können jedoch auf Grund der gemachten Beobachtungen als richtig angenommen werden, wobei vorzugsweise der erste Vorlauf mit ziemlicher Sicherheit als richtig angenommen werden kann.

Experimentelles*⁴

3 β -Acetoxy-20-methyl-21-piperidinopregna-5,20-dien (II)—7.45 g 3 β -Acetoxy-20 β -methylpregn-5-en-21-al*⁵ wurden mit 130 ccm wasserfreiem Benzol und 1.87 g Piperidin in der Bilwell-Sterling-Apparatur so lange gekocht, bis die Wasser-Abspaltung beendet war. Dieser Versuch wurde unter N₂-Atmosphäre ausgeführt und dauerte etwa 4 Std. Nach Entfernung des Lösungsmittels *in vacuo*, wurde der Rückstand aus Me₂CO umkristallisiert, wobei 7.06 g (80.5%) der plattenförmigen Kristalle vom Schmp. $152\sim 157^\circ$ erhalten wurden. $[\alpha]_D^{26} -60.5^\circ$ ($c=0.945$, CHCl₃). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{Atheor}}$ 228 m μ (ϵ 7330). C₂₉H₄₅O₂N-Ber.: C, 79.22; H, 10.32; N, 3.19. Gef.: C, 79.01; H, 10.26; N, 3.29.

3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al (III)—Durch eine Lösung von 6.25 g (II) in 400 ccm wasserfreiem Et₂O wurde das getrocknete HCl-Gas hindurchgeleitet, bis keine Niederschläge mehr eintraten. Dieses Enamin-Salz wurde filtriert, mit wasserfreiem Et₂O gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 6.50 g, Schmp. $213\sim 222^\circ$.

6.41 g Enamin-HCl wurden in 150 ccm AcOH gelöst und 30 Min. in einer N₂-Atmosphäre auf 75° erwärmt. Nach Kühlung wurden 500 ccm Eis-Wasser hinzugefügt und die abgeschiedenen Kristalle mit Et₂O ausgezogen. Die Et₂O-Lösung wurde mit 10% Na₂CO₃-Lösung und H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels in einer N₂-Atmosphäre wurde der Rückstand aus Hexan zweimal umkristallisiert. Nadeln vom Schmp. $120\sim 121^\circ$. Ausbeute: 4.03 g. $[\alpha]_D^{23} -43.8^\circ$ ($c=1.0$, CHCl₃). C₂₄H₃₆O₃-Ber.: C, 77.37; H, 9.74. Gef.: C, 77.28; H, 9.70.

20-Iso-22-dehydrocholesterin (IVa)—Die folgenden Versuche wurden unter Ausschluß von Feuchtigkeit in einer N₂-Atmosphäre ausgeführt. 11.75 g Triphenylisopentylphosphonium jodid vom Schmp. $173\sim 175^\circ$ und 30 ccm Et₂O wurden in eine Druckflasche eingefüllt. Zu dieser Suspension wurden 30.9 ccm einer 0.823N BuLi-Lösung gegeben und die Mischung 1.5 Std. magnetisch gerührt, wobei eine klare, orangefarbene Lösung erhalten wurde. Zur Lösung wurde weiter eine Lösung von 3.16 g (III) in 25 ccm Et₂O gegeben, was einen voluminösen Niederschlag hervorrief. Die Mischung wurde 2 Std. bei Zimmertemperatur magnetisch gerührt und dann 15 Std. auf 65° erwärmt. Der Reagensüberschuß wurde durch feuchten Et₂O zerstört, die Mischung filtriert und das Filtrat nach dem Trocknen eingedampft, wobei 4.2 g des öligen Produktes erhalten wurden. Bei der Acetylierung dieses Produktes ergaben sich 3.554 g des rohen Acetates. Diese ganze Menge des Acetates wurde in einem Gemisch von Hexan-Benzol (1:1) gelöst und über 140 g Al₂O₃ chromatographiert, wobei 1.437 g Kristalle vom Schmp. $55\sim 75^\circ$ erhalten wurden. Diese lieferten nach 2-stündigem Erhitzen mit 7-proz. EtOH-KOH 1.3 g des rohen kristallischen Verseifungsproduktes.

*³ Bergmann, *et. al.*²⁾ bemerkte, daß bei der Wittig-Reaktion von 3 β -Acetoxy-20 β -methylpregn-5-en-21-al die Methyl-Gruppe an C-20 gar nicht epimerisiert.

*⁴ Alle Schmp. sind im Flüssigkeitsbad bestimmt und nicht korrigiert. Elementaranalysen und IR-Spektalaufnahmen wurden im Takamine-Laboratorium ausgeführt. Dafür danken wir den Herren T. Onoe, H. Shindo und H. Higuchi sowie Frl. C. Furukawa und H. Ohtsuka bestens.

*⁵ Schmp. $114\sim 115^\circ$, $[\alpha]_D -63.8^\circ$ ($c=1.024$, CHCl₃). vgl. auch Fußnote 6.

10) L. F. Fieser, M. Fieser: "Steroids," 178 (1959). Reinhold Publishing Corp., New York.

Die ganze Menge des Verseifungsproduktes wurden in Hexan-Benzol (1:1) gelöst und über 130 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren wurde ein Gemisch von Hexan-Benzol (1:1) für folgende 4 Fraktionen verwendet: 700 ccm des Nr. 1 Ausflusses gaben keine Kristalle. Die Fraktion Nr. 2 von 250 ccm Ausfluß gab 280 mg Kristalle vom Schmp. 147~151°. Die Fraktion Nr. 3 von 350 ccm Ausfluß gab 410 mg Kristalle vom Schmp. 133~146°. Die Fraktion Nr. 4 von 200 ccm Ausfluß gab 190 mg Kristalle vom Schmp. 128~130°.

Beim weiteren Eluieren mit Benzol-MeOH (1:1) ließen sich für die Fraktion Nr. 5, 310 mg Kristalle vom Schmp. 105~120° liefern, welche nach Umkristallisation aus MeOH 130 mg Kristalle vom Schmp. 130~132° ergaben.

Aus der Fraktion Nr. 3 ergaben sich nach nochmaligem Chromatographieren mittels 50 g Al_2O_3 , 160 mg Kristalle vom Schmp. 145~152°. Diese Kristalle und diejenigen aus der Fraktion Nr. 2 ließen sich vereinigen und nochmals mit 45 g Al_2O_3 chromatographieren, wobei 310 mg der Kristalle vom Schmp. 153~155° erhalten wurden. Diese Substanz zeigte nach dem nochmaligen Chromatographieren keine Schmp.-Erhöhung. Zur Mikroanalyse wurde diese Substanz (IVa) aus MeOH umkristallisiert und ergab Seidenfadenförmige Nadeln vom Schmp. 154~155°. $[\alpha]_D^{28.5} -63.1^\circ$ (c=1.01, CHCl_3). $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}$ -Ber.: C, 84.31; H, 11.53. Gef.: C, 84.19; H, 11.42.

Acetat: Nadeln, Schmp. 107~108°. $[\alpha]_D^{29} -66.6^\circ$ (c=1.01, CHCl_3). $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_2$ -Ber.: C, 81.63; H, 10.87. Gef.: C, 81.66; H, 10.83.

Benzoat: Nadeln vom Schmp. 164.5~165.5°. $[\alpha]_D^{29.5} -33.0^\circ$ (c=1.05, CHCl_3). $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_2$ -Ber.: C, 83.55; H, 9.90. Gef.: C, 83.33; H, 10.13.

Kristalle aus der Fraktion Nr. 4 sowie aus der Fraktion Nr. 5 wurden vereinigt, mit Ac_2O -Pyridin acetyliert und das Acetat in das Tetrabromid übergeführt. Nach Reinigung und Dehalogenierung dieses Tetrabromides ließ sich das reine Acetat vom Schmp. 125~126° liefern. Ausbeute: 170 mg. Dieses Acetat (Vb) erwies sich nach Schmp., Mischprobe und IR-Spektrum als identisch mit dem natürlichen 22-Dehydrocholesterin-acetat.

Zusammenfassung

Das 3 β -Acetoxy-20 β -methylpregn-5-en-21-al (I) wurde über sein Enamin (II) in das 3 β -Acetoxy-20 α -methylpregn-5-en-21-al (III) verwandelt. Bei der Wittig-Reaktion von (III) ergaben sich das 20-Iso-22-dehydrocholesterin (IVa) und 22-Dehydrocholesterin (Va) in ungefähr gleicher Menge. Der Verfasser nahm also an, daß die Epimerisation der Methylgruppe an C-20 dabei eintrat.

(Eingegangen am 10. October, 1960.)

UDC 612.386[615.7]-084

85. Hisashi Nogami and Tai Matsuzawa: Studies on Absorption and Excretion of Drugs. I.*¹ Kinetics of Penetration of Acidic Drug, Salicylic Acid, through the Intestinal Barrier *in vitro*.

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo*²)

Drug absorption from the gastrointestinal tract has been discussed by many investigators and in recent years theoretical considerations on the mechanism of drug absorption have become important for establishing the proper methods of drug administration.

Brodie,¹⁾ Schanker,²⁾ and Hogben³⁾ studied drug absorption based on the thesis of

*¹ Presented before the Kanto Local Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Tokyo, June, 1960.

*² Hongo, Tokyo (野上 寿, 松沢 兌).

1) B.B. Brodie, *et al.*: J. Pharm. and Pharmacol., **9**, 345 (1957).

2) L.S. Schanker, *et al.*: J. Pharmacol. Exptl. Therap., **123**, 81 (1958).

3) C.A.M. Hogben, *et al.*: *Ibid.*, **125**, 275 (1959).