

The authors express their deep gratitudes to Dr. Yoshiro Sato, Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo, for his helpful discussion. They are also indebted to Drs. Ken-ichi Takeda and Kikuo Igarashi, Research Laboratory, Shionogi and Co., Ltd., for their kind providing meteogenine derivatives and Dr. Akira Tahara, Institute for Physical and Chemical Research, for his kind offering methylpodocarpol derivatives for this study. Thanks are also due to Drs. Osamu Yamamoto and Teruo Suzuki, the Government Chemical Industrial Research Institute of Tokyo, for making an NMR spectrometer available for the present work. 1,4-Dimethyltetralol-5(ac) was kindly provided by Dr. Tadamasu Onaka, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo.

### Summary

The scope and limitations of the spatial interaction effect of the hydroxyl group to the proton magnetic resonance are discussed in details.

(Received July 20, 1962)

UDC 547.92

### 113. Kiyoshi Sakai\*<sup>1</sup> und Kyosuke Tsuda\*<sup>2</sup>: Untersuchungen über Steroide. XXX.<sup>1)</sup> Versuche zur Synthese von Brassicasterin.

(Takamine Forschungslaboratorium, Sankyo A.G.,\*<sup>1</sup> und Institut für angewandte Mikrobiologie, Universität Tokio\*<sup>2</sup>)

Im Jahre 1935 hat Leven, Marker<sup>2)</sup> berichtet, daß sich der optisch aktive Kohlenwasserstoff, (–)-Methyläthylisopropylmethan konfigurativ von der (–)-2,3-Dimethylbuttersäure ableiten läßt. Aus dieser optisch aktiven Säure ergibt sich durch Veresterung und anschließende Reduktion ein optisch aktiver Alkohol, (–)-2,3-Dimethylbutanol. Wird dieser Alkohol bromiert, cyaniert und dann verseift, so entsteht (–)-3,4-Dimethylvaleriansäure, deren Ester durch Reduktion in (–)-3,4-Dimethylpentanol übergeht. Dieser läßt sich über das Bromid in (–)-Methyläthylisopropylmethan umwandeln.

(+)-Isopropylbernsteinsäure, deren absolute Konfiguration durch eine Ableitung aus (+)- $\alpha$ -Phellandren bereits aufgeklärt worden ist, ließ sich im Jahre 1954 von Freudenberg, *et al.*<sup>3)</sup> über (–)-2-Isopropyl-1,4-butandiol in (–)-Methyläthylisopropylmethan überführen, womit sich die absolute Konfiguration dieses links drehenden Kohlenwasserstoffes eindeutig als zur S-Reihe gehörig erwies.

Aus den zwei obengenannten Arbeiten folgte, daß die links drehende 2,3-Dimethylbuttersäure konfigurativ zur R-Reihe gehören muß.

Vor einigen Jahren haben Tsuda, *et al.*<sup>4)</sup> das aus 5-Dihydroergosterylacetat durch Ozonisation erhaltene (–)-2,3-Dimethylbutanal in (–)-2,3-Dimethylbutanol durch Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion überführt. Somit ließ sich die absolute Konfiguration der Methylgruppe an C<sub>24</sub> des Ergosterins als  $\beta$  (24 S) bestimmen, da das obengenannte

\*<sup>1</sup> Nishishinagawa, Shinagawa-ku, Tokio (酒井 淨).

\*<sup>2</sup> Hongo, Bunkyo-ku, Tokio (津田恭介).

1) XXIX. Mitteil: Dieses Bulletin, **11**, 529 (1963).

2) P. A. Leven, R. E. Marker: *J. Biol. Chem.*, **111**, 299 (1935).

3) K. Freudenberg, W. Lwowski: *Ann.*, **587**, 213 (1954).

4) K. Tsuda, R. Hayatsu, Y. Kishida: *Chem. & Ind. (London)*, **1959**, 1411; *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3396 (1960).

(-)-2,3-Dimethylbutanol nach den Arbeiten von Leven, Marker sowie von Freudenberg, *et al.* konfigurativ zur R-Reihe gehört.

Brassicasterin, das aus dem Rüböl (*Brassica rapa*)<sup>5)</sup> und aus Muscheln<sup>6)</sup> isoliert wurde, ließ sich einerseits durch Reduktion in das Perhydroprodukt, Ergosterin, überführen<sup>7)</sup> und andererseits aus Ergosterylacetat über Burawoy-Keton gewinnen,<sup>8)</sup> danach soll dieses Natursterin auch eine 24 $\beta$ -Methylgruppe wie das Ergosterin besitzen.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine weitere Bestätigung der 24 S-Konfiguration des Brassicasterins durch synthetische Versuche. Als Ausgangsmaterial ließ sich (-)-2R-2,3-Dimethylbuttersäure<sup>2)</sup> verwenden, die durch Veresterung und darauffolgende Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid (-)-2,3-Dimethylbutanol lieferte. Bei der Jodierung dieses Alkohols mit Triphenylphosphitmethylijodid ergab sich (-)-1-Jod-2,3-dimethylbutan, das durch gemeinsames Erhitzen mit Triphenylphosphin und Toluol in das ölige 2,3-Dimethylbutanyltriphenylphosphoniumjodid überging. Dieses Jodid wurde nach der üblichen Methode<sup>9)</sup> mit 3-Methoxy-23,24-dinor-5-cholen-22-al (I) umgesetzt, wobei ein Sterin vom Schmp. 146~147° mit einer Ausbeute von ca. 4% entstand. Wie in Tabelle I gezeigt wird, erweist sich dieses synthetische Sterin (II) von der Strukturformel 24 $\beta$ -Methylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (II) nach einem Vergleich mit den Daten in der Literatur als identisch mit Brassicasterin.

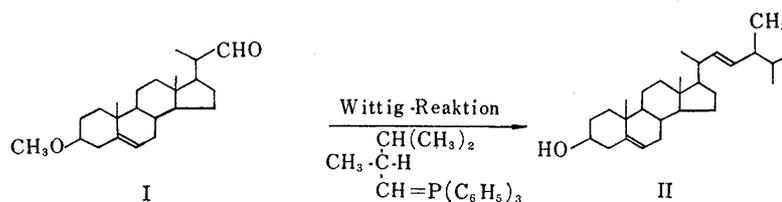


TABELLE I.

	Sterin (°C)		Acetat (°C)		Benzoat (°C)	
	Schmp.	$[\alpha]_D$	Schmp.	$[\alpha]_D$	Schmp.	$[\alpha]_D$
Synthetisches Präparat (II)	146~147	-58.7	155~156	-63.3	166~167	-34.8
Natürliches Präparat <sup>5)</sup>	148	-64	152	-62.2	163	-35
Aus Ergosterin abgeleitetes Präparat <sup>8)</sup>	150	-60	158~159	-64	169~172	-36

Außerdem haben wir nach der gleichen Methode ein Gemisch der Epimere an C<sub>24</sub> des 24-Methylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ols bzw. 24-Aethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ols hergestellt, als wir bei der Wittig-Reaktion ein racemisches Gemisch des 2,3-Dimethyl- bzw. 2-Aethyl-3-methyl-butanyltriphenylphosphoniumjodids als Reagens benutzten. Wir wollten die chromatographische Trennung der Epimere versuchen, die uns aber nicht gelang.

#### Experimentelles\*3

##### Gemisch der Epimere (1:1) an C<sub>24</sub> des 24-Methylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol

**rac-2,3-Dimethylbutanol**—Eine Suspension von 17.5 g LiAlH<sub>4</sub> in 400 cc Et<sub>2</sub>O wurde zusammen mit einer Lösung von 30 g 2,3-Dimethylbuttersäuremethylester in 200 cc Et<sub>2</sub>O 7 Std. bei Zimmertemperatur

\*3 Alle Schmp. sind im Flüssigkeitsbad bestimmt und nicht korrigiert. Elementaranalysen wurden von Dr. T. Onoe im Takaminelaboratorium ausgeführt.

5) A. Windaus, A. Welsch: *Ber.*, **42**, 612 (1909).

6) W. Bergmann, R.C. Ottke: *J. Org. Chem.*, **14**, 1085 (1949).

7) E. Fernhola, H.E. Stavely: *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 428, 1875, 3346 (1940).

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

9) G. Wittig, U. Schöllkopf: *Chem. Ber.*, **87**, 1318 (1954); K. Tsuda, K. Sakai: *Dieses Bulletin*, **9**, 529 (1961).

verrührt. Nach Zugabe von H<sub>2</sub>O-haltigem Et<sub>2</sub>O wurde das Reaktionsgemisch mit H<sub>2</sub>O versetzt, verrührt und dann das Reaktionsprodukt mit Et<sub>2</sub>O extrahiert. Aus den Et<sub>2</sub>O-Auszügen ließ sich *rac*-2,3-Dimethylbutanol vom Sdp. 146~147° in einer Ausbeute von 94.5% (22.02 g) erhalten.  $d_4^{25}$  0.8242.  $n_D^{28}$  1.4192.

***rac*-1-Jod-2,3-dimethylbutan**—In die Suspension von 84.75 g Triphenylphosphitmethyljodid<sup>10)</sup> in 260 cc Et<sub>2</sub>O wurde eine Lösung von 17 g *rac*-2,3-Dimethylbutanol in 50 cc Et<sub>2</sub>O eingetropft und 7 Std. unter Rückfluß zum Sieden erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde von einem geringen Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zweimal mit je 50 cc 5% NaOH und anschließend mit H<sub>2</sub>O gewaschen und dann mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Aus dieser Et<sub>2</sub>O-Lösung ließ sich 1-Jodmethyläthylbutan von Sdp<sub>29</sub> 63° in einer Ausbeute von 65.1% gewinnen (23 g).  $d_4^{25}$  1.494. C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>J—Ber.: C, 33.97; H, 6.13. Gef.: C, 33.56; H, 5.78.

**2,3-Dimethylbutanyltriphenylphosphoniumjodid**—9.9 g Triphenylphosphin wurden in 50 cc Toluol gelöst, mit 8.0 g 1-Jod-2,3-dimethylbutan versetzt und 50 Std. in einem geschlossenen Rohr auf 120° erhitzt, wobei ein öliges Produkt ausfiel. Dieses Produkt wurde durch Dekantieren abgetrennt, mit H<sub>2</sub>O gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 9.3 g.

**24-Methyl( $\alpha,\beta$ )-cholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol**—6.66 g öligen 2,3-Dimethylbutanyltriphenylphosphoniumjodids wurden zusammen mit 17.1 cc 0.824N BuLi-Et<sub>2</sub>O-Lösung 2 Std. geschüttelt, wobei das Reaktionsgemisch eine rote Färbung annahm. Diese Lösung wurde unter Kühlung mit einer Lösung von 3.9 g 3-Methoxy-23,24-dinor-5-cholen-22-al<sup>11)</sup> in 30 cc Et<sub>2</sub>O versetzt und 13 Std. in einem geschlossenen Rohr auf 65° erhitzt. Hierauf wurde die Et<sub>2</sub>O-Schicht abgetrennt, zweimal mit 5% NaOH und dann mit H<sub>2</sub>O gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Beim Eindampfen des Lösungsmittels ergaben sich 4.03 g eines öligen Produktes. Es wurde an 160 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, wobei sich durch Eluieren mit einem Gemisch von Hexan-Benzol (2:1) 2.0 g der öligen Hauptfraktion gewinnen ließen. Bei Einwirkung von 25 cc Ac<sub>2</sub>O und 300 mg Toluolsulfonsäure auf dieses Öl ergaben sich 1.75 g öligen Acetates, das durch Chromatographie an 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und Hexan-Benzol (1:2) in Kristalle überging. Nach Verseifung mit 5%ige KOH-EtOH-Lösung ließen sich 1.3 g des rohen Sterins erhalten. Es ließ sich an 34 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographieren. Nach Entfernung der ersten Fraktion, die mit Hexan-Benzol (1:2) eluiert wurde, ließ sich die zweite Fraktion durch Eluieren mit Benzol-MeOH (1:1) gewinnen. Die letzte ergab durch Umkristallisation aus MeOH Nadeln vom Schmp. 140~142°. Ausbeute 340 mg.  $[\alpha]_D^{29.5}$  -54.5° (c=1.048, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O—Ber.: C, 84.35; H, 11.63. Gef.: C, 84.22; H, 11.75. Acetat: Nadeln aus MeOH. Schmp. 133~145.5°.  $[\alpha]_D^{29.5}$  -58.3° (c=1.143, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>—Ber.: C, 81.76; H, 10.98. Gef.: C, 81.91; H, 11.05. Benzoat: Nadeln aus Benzol. Schmp. 130~132°.  $[\alpha]_D^{29.5}$  -27.2° (c=1.098, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>35</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>—Ber.: C, 83.61; H, 10.02. Gef.: C, 83.51; H, 10.31.

Zur Bestätigung der Struktur dieses Sterins wurde es mit O<sub>3</sub> umgesetzt und das erhaltene Produkt zur Wasserdampfdestillation gebracht. Der hierbei erhaltene flüchtige Anteil wurde mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin umgesetzt und das Reaktionsprodukt durch Chromatographie an Silikagel gereinigt, wobei sich 240 mg Kristalle erhalten ließen. Sie erwiesen sich nach Schmp. Mischschmp. und IR als identisch mit *rac*-2,3-Dimethylbutanal-2,4-dinitrophenylhydrazon.

#### **Brassicasterin(24 $\beta$ -methylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol)**

(-)-**2R-2,3-Dimethylbuttersäure**<sup>9)</sup>—1030 g *rac*-2,3-Dimethylbuttersäure(-)-Chinin-Salz wurden 18 mal aus Me<sub>2</sub>CO umkristallisiert, wobei sich 315 g blätterförmigen Kristalle vom Schmp. 144~145° gewinnen ließen. Sie wurden in 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst und die entstehende freie Säure ausgeäthert. Das Ausäthern wurde 4 mal wiederholt. Diese Säure siedete bei 192~193°.  $[\alpha]_D^{28}$  -20.5° (Ohne Lösungsmittel).  $d_4^{25}$  0.9279.  $n_D^{28}$  1.4131. Veresterung mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> ergab einen Ester vom Sdp<sub>760</sub> 133~135°  $[\alpha]_D^{35}$  -28.1° (Ohne Lösungsmittel).  $d_4^{25}$  0.8592.

(-)-**2R-2,3-Dimethylbutanol**<sup>4)</sup>—Es wurde bei der LiAlH<sub>4</sub>-Reduktion des obengenannten Esters gewonnen.  $[\alpha]_D^{28}$  -5.5° (Ohne Lösungsmittel).  $d_4^{25}$  0.8242.  $n_D^{29}$  1.4193.

(-)-**2R-Jod-2,3-dimethylbutan**—Jodierung des optisch aktiven Alkohols wurde nach der gleichen Methode wie beim Racemat durchgeführt. Sdp<sub>29</sub> 63°  $[\alpha]_D^{29}$  -12.02° (Ohne Lösungsmittel).  $d_4^{25}$  1.494. Bei der Umsetzung mit Triphenylphosphin lieferte es das Phosphoniumjodid.

**Brassicasterin**—Das aus 9 g des obengenannten Phosphoniumjodids hergestellte Triphenyl-2,3-dimethylbutylidenphosphoran wurde mit 3.7 g 3-Methoxy-23,24-dinor-5-cholen-22-al umgesetzt. Das erhaltene 3-Methoxysterin ließ sich über Acetat in das freie Sterin überführen. Ausbeute 550 mg. Acetylierung mit Ac<sub>2</sub>O und Pyridin ergab 540 mg Acetat, das durch Einwirkung von Br<sub>2</sub>-AcOH in Acetatetetrabromid überging. Ausbeute 350 mg. Umkristallisation aus AcOEt ergab 178 mg Kristalle vom Schmp. 207~209°, die durch 1 stündiges Erhitzen mit 120 mg Zn und 4 cc AcOH und anschließende Umkristallisation aus MeOH in Blättchen vom Schmp. 155~156° übergingen.  $[\alpha]_D^{29}$  -63.3° (c=1.133, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> (Sterinacetat)—Ber.: C, 81.76; H, 10.98. Gef.: C, 81.71; H, 11.09. Sterin: Nadeln vom Schmp. 146~147° (MeOH).  $[\alpha]_D^{29}$  -58.7° (c=1.147, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O—Ber.: C, 84.35; H, 11.63.

10) S. R. Landauer, H. N. Rydon: J. Chem. Soc., 1953, 2224.

11) A. P. Contolella, F. W. Heyl, M. E. Herr: J. Am. Chem. Soc., 70, 2953 (1948).

Gef. : C, 84.29; H, 11.50. Benzoat : Nadeln aus MeOH-Benzol. Schmp. 166~167°.  $[\alpha]_D^{29} -34.8^\circ$  (c=1.069, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>35</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>—Ber. : C, 83.61; H, 10.02. Gef. : C, 83.43; H, 10.31.

**Gemisch der Epimere (1:1) an C<sub>24</sub> des 24-Aethylcholesta-5,22-dien-3β-ol**

**rac-3-Methyl-2-äthylbutanol**—3-Methyl-2-äthylbuttersäure<sup>12)</sup> wurde mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> in Methylester vom Sdp<sub>760</sub> 150~152° überführt. Ausbeute 88 %. LiAlH<sub>4</sub>-Reduktion ergab 3-Methyl-2-äthylbutanol vom Sdp<sub>760</sub> 164°  $d_4^{25}$  0.8329.  $n_D^{29.4}$  1.4271.

**rac-1-Jod-2-äthyl-3-methylbutan**—In die Lösung von 94.2 g Triphenylphosphitmethyljodid in 300 cc Et<sub>2</sub>O wurden eine Lösung von 21 g 3-Methyl-2-äthylbutanol in 50 cc Et<sub>2</sub>O eingetropft. Nach 15 stündiger Erwärmung unter Rückfluß wurde das Reaktionsprodukt zur fraktionierten Destillation gebracht. Sdp<sub>30</sub> 76~78°  $d_4^{25}$  1.499. C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>J—Ber. : C, 37.17; H, 6.66. Gef. : C, 36.83; H, 6.22. 9.0 g Jodid wurden mit 12.4 g Triphenylphosphin umgesetzt, wobei sich 11.8 g eines öligen Produktes gewinnen ließen.

**24-Aethyl (α,β)-cholesta-5,22-dien-3β-ol**—11.77 g 3-Methyl-2-äthylbutanyltriphenylphosphonium jodid wurden mit BuLi und dann mit 5.29 g 3-Methoxy-23,24-dinor-5-cholen-22-al umgesetzt, wobei sich 6.5 g eines öligen Produktes gewinnen ließen. Es wurde an 206 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, wobei sich die Hauptfraktion mit Hexan-Benzol (1:1) eluieren ließ. Ausbeute 3.2 g. Zur Reinigung dieses Sterins wurde es 3 Std. mit 100 cc Ac<sub>2</sub>O und 700 mg Toluolsulfonsäure auf 120° erhitzt und das gewonnene Acetat an 55 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographisch gereinigt. Ausbeute 1.92 g. Bei Verseifung mit 5% KOH-EtOH-Benzol ließ sich das freie Sterin in einer Ausbeute von 1.8 g erhalten. Es wurde an 50 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Nach Entfernung des mit Hexan-Benzol (1:1) eluierten Anteils wurde die mit Benzol-MeOH (1:1) eluierte Fraktion weiter durch Umkristallisation aus EtOH gereinigt, wobei sich Nadeln vom Schmp. 155~157° gewinnen ließen.  $[\alpha]_D^{29} -49.8^\circ$  (c=1.038, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O (Sterin)—Ber. : C, 84.40; H, 11.72. Gef. : C, 84.60; H, 11.83. Acetat : Schuppen vom Schmp. 133~136°.  $[\alpha]_D^{28} -54.1^\circ$  (c=0.997, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>—Ber. : C, 81.88; H, 11.0<sub>8</sub>. Gef. : C, 81.66; H, 11.15. Benzoat : Schuppen vom Schmp. 140~142° (MeOH).  $[\alpha]_D^{29} -31^\circ$  (c=1.095, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>—Ber. : C, 83.66; H, 10.14. Gef. : C, 83.51; H, 10.28.

Zur Bestätigung der Struktur dieses Sterins wurden 55 mg Acetat mit O<sub>3</sub> umgesetzt und das erhaltene flüchtige Abbauprodukt in 2,4-Dinitrophenylhydrazon überführt. 18 mg. Nadeln vom Schmp. 117~118°. Sie erwiesen sich nach allen Daten als identisch mit 3-Methyl-2-äthylbutanal-2,4-dinitrophenylhydrazon.

### Zusammenfassung

Es wird eine partielle Synthese des Brassicasterins beschrieben. Das aus (–)-2R-1-Jod-2,3-dimethylbutan gewonnene Triphenyl-2,3-dimethylbutylidenphosphoran läßt sich mit 3-Methoxy-23,24-dinor-5-cholen-22-al umsetzen. Das hierbei erhaltene 24β-Methylcholesta-5,22-dien-3β-ol erweist sich nach einem Vergleich mit den Daten in der Literatur als identisch mit Brassicasterin.

(Eingegangen am 3. September, 1962)

12) J. C. Shivero, B. H. Hudson, C. R. Hauser : J. Am. Chem. Soc., 66, 309 (1944).