

HANS HOFFMEISTER *) , CLEMENS RUFER, HANS H. KELLER,
HANS SCHAIRER und PETER KARLSON

Zur Chemie des Ecdysons, III¹⁾

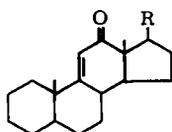
Vergleichende spektrometrische Untersuchungen an
 α,β -ungesättigten Steroidketonen

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

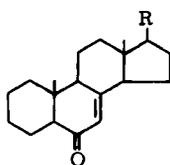
(Eingegangen am 4. November 1964)

Die Verschiebung der C-18- und C-19-Methylgruppensignale in Protonenresonanzspektren von $\Delta^9(11)$ -12-Keton-, Δ^7 -6-Keton-, Δ^4 -3-Keton- und $\Delta^5(6)$ -7-Keton-Systemen in Steroiden wird untersucht und zur Bestimmung der Lage der ungesättigten Ketogruppen im Steroidhormon Ecdyson herangezogen. Im Ecdysonmolekül liegt danach kein $\Delta^9(11)$ -12-Keton vor. Ergänzt werden die Befunde durch Charakteristika von IR- und UV-Spektren der Modellsubstanzen. Die Synthese einiger Steroide mit den oben angegebenen Ketonsystemen wird beschrieben.

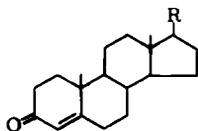
In der ersten Mitteilung über die Chemie des Ecdysons²⁾ konnten wir zeigen, daß das Hormon ein Steroid-Grundgerüst besitzt. Aus der Summenformel $C_{27}H_{44}O_6$ sowie aus spektroskopischen Daten und aus Abbaueversuchen waren fünf Hydroxylgruppen und eine α,β -ungesättigte Ketongruppierung im Molekül zu erkennen. Das Protonenresonanzspektrum des Ecdysons zeigt ein zur Ketonfunktion α -ständiges Proton an der Doppelbindung bei 6.18 ppm (Abbild. 1). Die Lage der Carbonylbande im IR-Spektrum (Abbild. 2) beweist, daß kein Fünfringketon vorliegt. Nach diesen spektralen Daten bleiben für die Lage des ungesättigten Ketons vier Möglichkeiten:



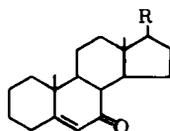
$\Delta^9(11)$ -12-Keton



Δ^7 -6-Keton



Δ^4 -3-Keton



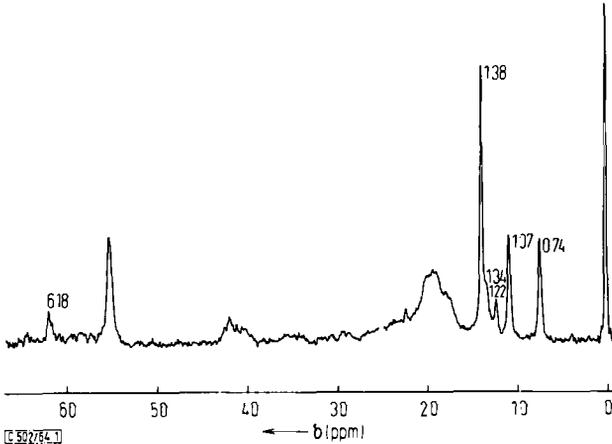
$\Delta^5(6)$ -7-Keton

*) Neue Anschrift: I. Medizinische Universitätsklinik, 2 Hamburg 20, Martinstraße 52.

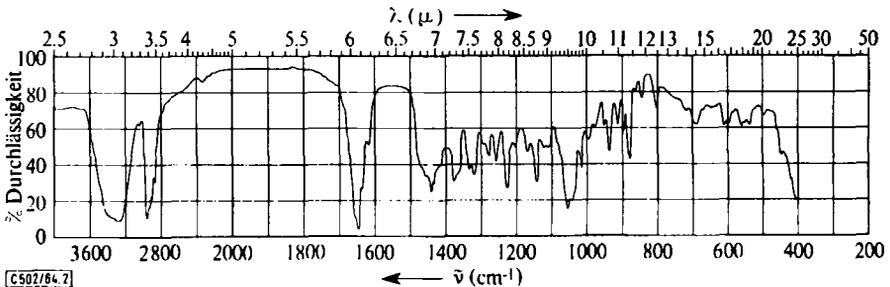
1) II. Mitteil.: W. HOPPE und R. HUBER, Chem. Ber. **98**, 2353 [1965], vorstehend.

2) P. KARLSON, H. HOFFMEISTER, W. HOPPE und R. HUBER, Liebigs Ann. Chem. **662**, 1 [1963].

Die UV-Spektren des Ecdysons und einiger Abbauprodukte, die nach Säurebehandlung von Ecdyson isolierbar sind, ließen uns ein $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton annehmen. Die im folgenden angeführten Spektren von Vergleichssubstanzen führten uns zu anderen Ergebnissen.



Abbild. 1. Protonenresonanzspektrum des Ecdysons in Pyridin



Abbild. 2. Infrarotspektrum des Ecdysons (in KBr)

1. PROTONENRESONANZSPEKTREN

Die Stellung eines $\Delta^{9(11)}$ -12-Ketons zwischen den beiden angulären Methylgruppen muß einen deutlichen Einfluß auf die Lage der Methylsignale im Protonenresonanzspektrum haben³⁾. Da das Spektrum des Ecdysons wegen der Löslichkeitseigenschaften nur in Pyridin gemessen wurde, konnten wir die in Chloroform erhaltenen Vergleichsdaten der Literatur³⁾ für Steroide nicht benutzen. Der Unterschied der ppm-Werte bei Messungen in Pyridin und Chloroform ist nicht rechnerisch erfaßbar und läßt sich nur von Fall zu Fall bestimmen^{4,5)}. Wir haben deshalb eine Reihe von Vergleichssubstanzen hergestellt und die Eigenschaften der verschiedenen α,β -ungesättigten Ketogruppierungen im PMR-Spektrum in Pyridin untersucht. Tab. 1 gibt die wichtigsten Befunde wieder.

³⁾ R. F. ZÜRCHER, *Helv. chim. Acta* **44**, 1380 [1961]; **46**, 2055 [1963].

⁴⁾ B. SLOMP und F. MCKELLAR, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 999 [1960].

⁵⁾ J. P. KUTNEY, *Steroids* **2**, 225 [1963].

Tab. 1. Einfluß verschiedener α,β -ungesättigter Ketogruppen auf die Lage der Signale der angulären Methylgruppen in Steroiden (ppm-Werte)

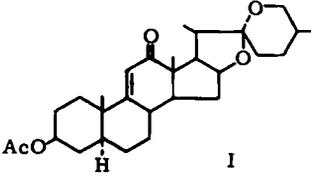
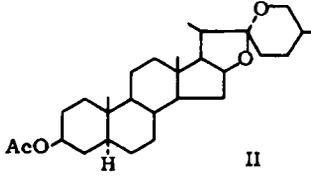
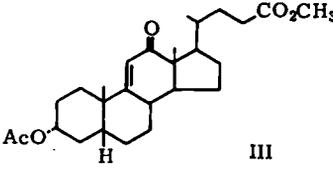
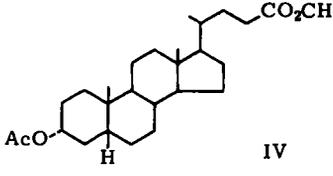
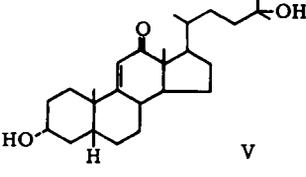
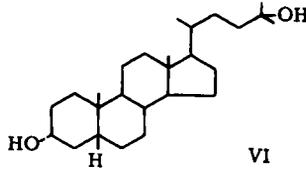
Keton- typ	Formel	18- Methyl- Gruppe	Diff.	19- Methyl- Gruppe	Diff.	
$\Delta^{9(11)}$ -Ketone	 I	0.96		1.01		
			0.28		0.22	
	 II	0.68		0.79		
			0.90		1.06	
	 III		0.30		0.19	
			0.60		0.87	
	 IV		0.94		1.10	
			0.28		0.17	
	 V		0.66		0.93	
			0.29		0.19	
	 VI					
	Mittelwert der Verschiebung		0.29		0.19	

Tabelle 1 (Fortsetzung)

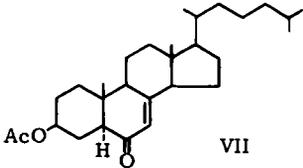
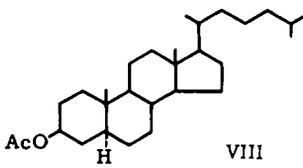
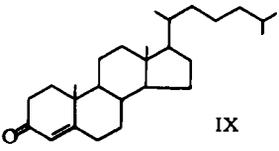
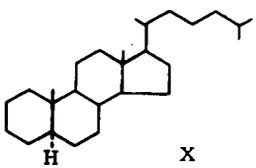
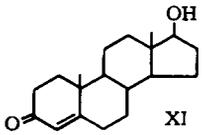
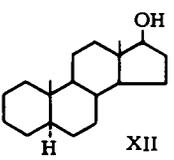
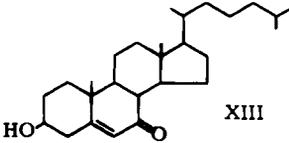
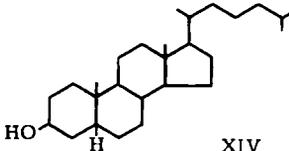
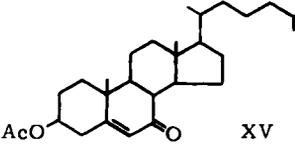
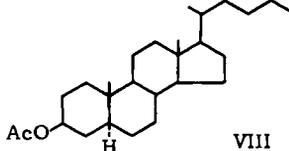
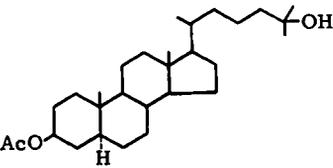
Keton- typ	Formel	18- Methyl- Gruppe	Diff.	19- Methyl- Gruppe	Diff.
Δ^7 -6-Keton	 VII	0.55		0.83	
			--0.13		0.04
	 VIII	0.68		0.79	
	Wert der Verschiebung		--0.13		0.04
Δ^4 -3-Ketone	 IX	0.68		1.04	
			0		0.25
	 X	0.69		0.79	
	 XI	0.96		1.04	
			0		0.25
	 XII	0.97		0.79	
	Mittelwert der Verschiebung		0		0.25

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Keton- typ	Formel	18- Methyl- Gruppe	Diff.	19- Methyl- Gruppe	Diff.
$\Delta^{5(6),7}$ -Ketone	 XIII	0.70		1.14	
	 XIV	0.70	0	0.84	0.30
	 XV	0.68		1.10	
	 VIII	0.68		0.79	
	Mittelwert der Verschiebung		0		0.31

Aus Tab. 1 geht deutlich hervor, daß die $\Delta^{9(11)}$ -12-Ketogruppe sowohl das C-18- als auch das C-19-Methylsignal zu höheren Werten hin verschiebt. Die Verschiebung ist unabhängig von der Verknüpfung der Ringe A und B. Die mittlere Verschiebung für die C-18-Methylgruppe beträgt 0.29 ppm, für C-19-Methyl 0.19 ppm. Als Modellsubstanz für das Ecdyson wurde das 3β -Acetoxy-cholestan-(5 α)-ol-(25) (XVI) hergestellt, das die von uns angenommene Seitenkette enthält; die Substanz weist folgende ppm-Werte auf:

 XVI	C-18-Methyl	C-19-Methyl
	0.66	0.93

Addiert man die zusätzliche Verschiebung durch ein $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton, so erhält man für das C-18-Methylsignal $0.66 + 0.29 = 0.95$ ppm. Das entsprechende Signal im Ecdysonspektrum liegt bei 0.74 ppm. Dieser niedrige Wert schließt ein $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton im Ecdyson aus, denn Hydroxylgruppensubstituenten verschieben die Methylsignale nur zu noch höheren ppm-Werten, wenn sie überhaupt einen Einfluß haben *).

Der Einfluß der drei anderen Ketogruppierungen auf die Verschiebung der Methylsignale ist ebenfalls in Tab. 1 zusammengestellt. Berechnet man aus dem Mittelwert der Verschiebung und den Daten für die Modellsubstanz XVI die zu erwartenden ppm-Werte, so ergibt sich für das Δ^7 -6-Keton 0.53 ppm, für das Δ^4 -3-Keton und das $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton je 0.66 ppm, d. h. sämtliche Werte liegen niedriger als der für das Ecdyson gemessene (0.74 ppm). In einem solchen Fall läßt sich keine Entscheidung treffen, da auch zusätzliche Hydroxylgruppen die Methylsignale zu höheren Werten hin verschieben können.

Eine sichere Aussage erlauben die Protonenresonanzspektren über die Endgruppe der Ecdysonseitenkette. Wir haben mehrere Verbindungen mit der von uns angenommenen Isopropylalkohol-Gruppierung hergestellt und gefunden, daß das Signal der beiden Methylgruppen stets an der gleichen Stelle liegt wie im Ecdysonspektrum (s. Tab. 2). Die Lage des Signals ist bedingt durch die tertiäre OH-Gruppe; früher von uns angenommene Anordnungen der beiden Methylgruppen¹⁾ kommen nicht mehr in Betracht.

2. INFRAROT- UND ULTRAVIOLETTESPEKTREN

Mit einer verbesserten Methode gelang es uns jetzt, die CC-Doppelbindungsbande im IR-Spektrum des Ecdysons bei 1625/cm sichtbar zu machen (Abbild. 2). Tab. 2 gibt die Lage von Doppelbindungsbanden in einigen von uns hergestellten α , β -ungesättigten Ketonen wieder.

Man sieht, daß die CC-Doppelbindungsbande aller $\Delta^{9(11)}$ -12-Ketone bei erheblich niedrigeren Frequenzen liegt als die des Ecdysons. Dies ist ein weiteres Argument gegen das Vorliegen eines solchen Ketons. Die Lage der Carbonylbande im IR wird von Hydroxylgruppen beeinflusst und ist daher nicht charakteristisch für die Stellung des Ketons. Wir haben dann einige Δ^7 -6-Ketone hergestellt und untersucht. Für dieses Ketonssystem gibt es in der Literatur bisher nur wenige Beispiele⁶⁻⁸⁾ mit widersprechenden Angaben der spektralen Daten. Die Lage der C=C-Valenzschwingung stimmt bei allen von uns dargestellten Verbindungen außerordentlich gut mit der entsprechenden Bande des Ecdysons überein.

Für die Δ^4 -3-Ketone und $\Delta^{5(6)}$ -7-Ketone sind in der Tabelle einige selbst gemessene Beispiele angeführt. Diese Ketone sind in der Literatur in großer Zahl beschrieben; die spektralen Daten stimmen mit den von uns gefundenen überein. Die C=C-Valenzschwingung beider Ketontypen weicht erheblich vom entsprechenden Ecdyson-

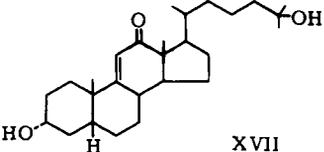
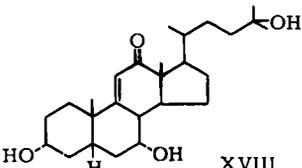
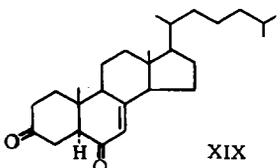
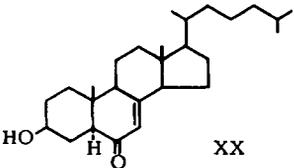
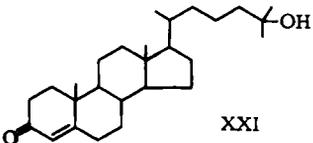
*) ZÜRCHER³⁾ beobachtete in Chloroform sehr wenige Fälle, in denen ein Hydroxylgruppensubstituent die Methylsignale zu niedrigeren ppm-Werten hin verschiebt. In Pyridin konnten wir keine solche Ausnahme feststellen; außerdem sind diese Verschiebungen in CHCl_3 so geringfügig, daß sie unsere Aussage nicht beeinflussen.

6) W. E. HARVEY und K. BLOCH, Chem. and Ind. 1961, 595.

7) M. P. HARTSHORN und A. F. A. WALLIS, J. chem. Soc. [London] 1962, 3839.

8) L. CAGLIOTTI, G. CAINELLI und K. MAINA, Tetrahedron [London] 19, 1057 [1963].

Tab. 2. Spektroskopische Daten einiger Steroide

Formel	IR (cm ⁻¹)		UV		PMR (ppm) C ₂₆ /C ₂₇ (C ₂₅ /C ₂₆)
	$\nu_{C=C}$	$\nu_{C=O}$	λ_{max} (m μ)	ϵ	
Ecdyson	1625	1657	242	12400	1.38
V	1603	1675	237	12400	1.40
 XVII	1605	1678	239	10300	1.42
 XVIII	1608	1675	238	10500	1.42
III	1600	1680	241	11500	—
I	1600	1680	238	11700	—
VII	1625	1675	244	14050	—
 XIX	1623	1669	245	13500	—
 XX	1627	1675	244	13920	—
 XXI	1615	1662	240	16900	1.42
XV	1633	1680	235	13750	—
XIII	1631	1670	237	14900	—

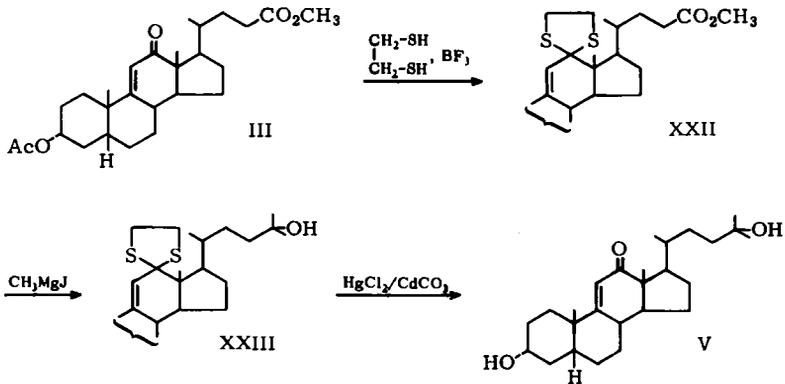
wert ab. Das UV-Maximum von $\Delta^{5(6)}$ -7-Ketonen liegt i. allg. niedriger, die Extinktion von Δ^4 -3-Ketonen i. allg. höher als der Wert für das Ecdyson. Aus diesen Gründen ist eine Δ^7 -6-Ketogruppe im Ecdyson am wahrscheinlichsten; über weitere Hinweise für die Richtigkeit dieser Annahme werden wir noch berichten.

3. DARSTELLUNG DER VERGLEICHSSUBSTANZEN

Die Verbindungen VIII, IX, X, XI, XII, XIV und XXI waren im Handel erhältlich bzw. wurden uns von der Firma Schering freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Substanzen I⁹⁾, III¹⁰⁾, IV¹⁰⁾, VI¹¹⁾, XIII¹²⁾ und XV¹³⁾ wurden nach den entsprechenden Literaturvorschriften hergestellt. Tigogeninacetat (II)¹⁴⁾ erhielten wir auf neuem Wege durch Reduktion von Hecogenin nach HUANG-MINLON.

24-Nor-5 β -cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12) (V) wurde in folgender Weise synthetisiert:



Das Keton III¹⁰⁾ ließ sich mit Äthandithiol-(1.2) zum cyclischen Mercaptol XXII umsetzen. Grignard-Reaktion in ätherischer Lösung führte zum Dimethylcarbinol XXIII. Entschwefelung lieferte schließlich V, das nach dünnschichtchromatographischer Reinigung kristallisiert erhalten werden konnte.

Das zu V homologe 5 β -Cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12) (XVII) erhielten wir, indem wir die Seitenkette des Desoxycholsäurechlorid-diformiats (XXIV)¹⁵⁾ nach ARNDT-EISTERT verlängerten. Vollständige Verseifung und anschließende Veresterung der Säuregruppe lieferte 24-Homo-desoxycholsäure-methylester (XXVI). Die gezielte Cathylierung in 3-Stellung gelang analog einer Vorschrift von FIESER¹⁶⁾ für Desoxycholsäure-Derivate. Das Cathylat (XXVII) wurde dann mit Chromat zu XXVIII oxydiert und mit Selendioxyd zu XXIX dehydriert.

9) R. H. MAZUR, J. Amer. chem. Soc. **81**, 1454 [1962].

10) E. SEEBECK und T. REICHENSTEIN, Helv. chim. Acta **26**, 536 [1943].

11) F. REINDEL und K. NIEDERLÄNDER, Ber. dtsch. chem. Ges. **68**, 1969 [1935].

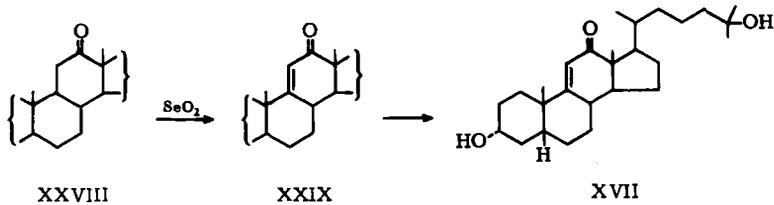
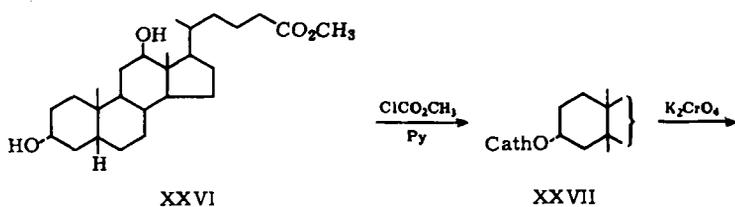
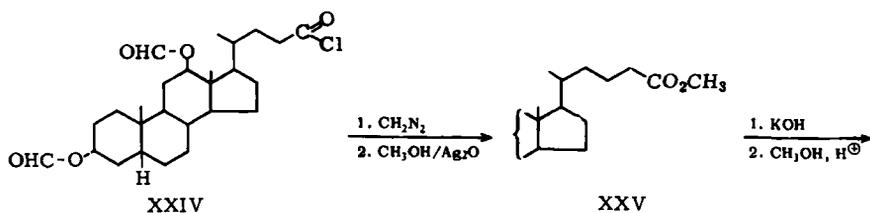
12) S. BERGSTRÖM und O. WINTERSTEINER, J. biol. Chemistry **141**, 597 [1941].

13) L. F. FIESER, M. FIESER und R. N. CHAKRAVARTI, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2226 [1949].

14) R. TSCHESCHE und A. HAGEDORN, Ber. dtsch. chem. Ges. **68**, 1412a [1935].

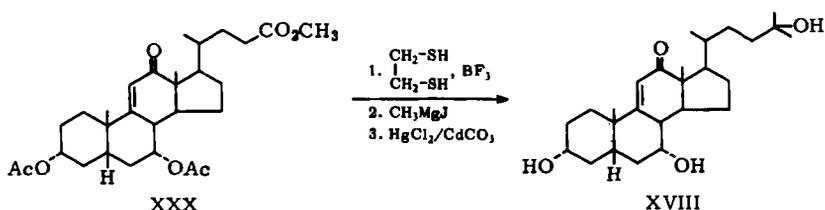
15) F. CORTESI und L. BAUMANN, J. biol. Chemistry **113**, 779 [1935].

16) L. F. FIESER und S. RAJAGOPALAN, J. Amer. chem. Soc. **72**, 5530 [1950].



Die weiteren Reaktionsschritte wurden analog den oben beschriebenen durchgeführt: Mercaptolisierung, Umsetzung mit Methylmagnesiumjodid und Abspaltung der Schutzgruppe führten zum 5 β -Cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12) (XVII).

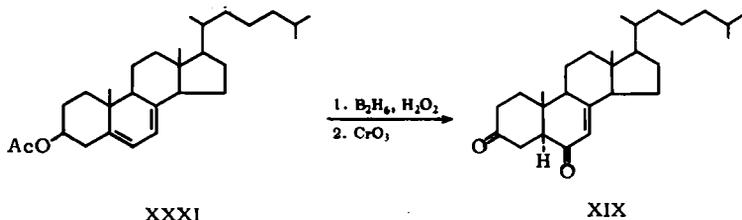
Auf dem gleichen Wege konnten wir aus Cholen-(9(11))-diol-(3 α .7 α)-on-(12)-säuremethylester-diacetat (XXX)¹⁷ das 24-Nor-5 β -cholesten-(9(11))-triol-(3 α .7 α .25)-on-(12) (XVIII) synthetisieren:



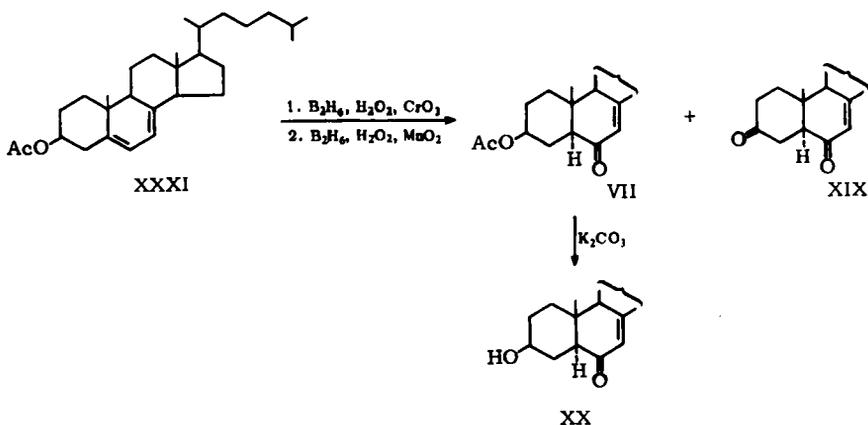
Die Verbindungen VII, XIX und XX wurden aus 7-Dehydrocholesterinacetat (XXXI) gewonnen, indem wir einen von CAGLIOTTI⁸⁾ beschriebenen Weg modifizierten. CAGLIOTTI konnte die Δ^5 -Doppelbindung im Cholestadien-(5.7) selektiv hydroborieren und oxydierte das erhaltene Produkt mit Chromsäure zu XIX. Wir haben Cholesta-

¹⁷⁾ L. F. FIESER und S. RAJAGOPALAN, J. Amer. chem. Soc. 73, 4133 [1951].

dien-(5.7)-acetat (XXXI) mit B_2H_6 umgesetzt und mit $H_2O_2/NaOH$ aufgearbeitet. Ein Teil des rohen Produkts wurde mit Chromsäure, der andere Teil mit nach ATTENBURROW¹⁸⁾ vorbereitetem Mangandioxyd oxydiert. Die zweite Methode schien uns einige



Vorteile zu bieten, weil die β -Acetoxygruppe während der Hydroborierung teilweise reduziert bzw. bei der Aufarbeitung verseift wird. Durch Mangandioxyd wird nur die allylständige OH-Gruppe oxydiert. In beiden Fällen erhielten wir neben dem gewünsch-



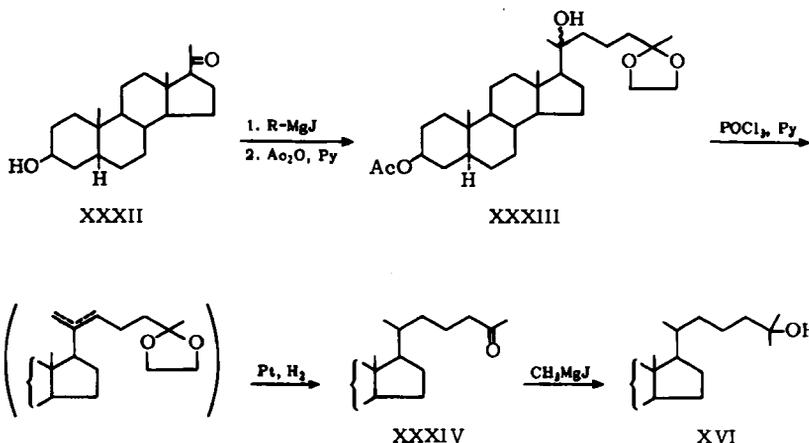
ten 5α -Cholesten-(7)-ol-(β)-on-(6)-acetat (VII) auch 5α -Cholesten-(7)-dion-(3.6) (XIX). Bei der MnO_2 -Oxydation erhielten wir 40%, bei der Chromsäure-Oxydation 30% Ausbeute an VII. Verseifung lieferte dann XX.

5α -Cholestan-diol-(β .25)-3-acetat (XVI)¹⁹⁾ wurde, ausgehend vom 5α -Pregnan-ol-(β)-on-(20) (XXXII), synthetisiert. XXXII wurde in Tetrahydrofuran mit der Grignard-Verbindung des 5-Chlor-pentanon-(2)-äthylenacetals umgesetzt und anschließend zu XXXIII acetyliert. Wasserabspaltung mit Phosphoroxychlorid in Pyridin führte zu einem Isomerenmisch. Die Doppelbindung kann dabei nach REICHSTEIN²⁰⁾ zwischen den C-Atomen 20 und 21 oder den C-Atomen 20 und 22 liegen. Die Hydrierung führt zu einem Produkt mit sehr breitem Schmelzpunktsintervall. Durch Abspaltung der

¹⁸⁾ J. ATTENBURROW, A. CAMERON, J. CHAPMAN, R. EVANS, B. HEMS, A. HANSEN und T. WALKER, J. chem. Soc. [London] 1952, 1094.

¹⁹⁾ L. F. FIESER, WEI-YUAN HUANG und B. K. BHATTACHARYYA, J. org. Chemistry 22, 1380 [1957].

²⁰⁾ B. A. KOEHLIN und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 27, 549 [1944].



Schutzgruppe und Umsetzung mit Methylmagnesiumjodid wurde die 25-Hydroxy-Verbindung (XVI) erhalten, die nach häufigem Umkristallisieren die gleichen Daten zeigte wie in der Literatur¹⁹⁾ beschrieben.

Wir danken Herrn Dr. SONNENBICHLER und Fräulein SCHILD (Max-Planck-Institut für Biochemie, München) für die Aufnahme der Protonenresonanzspektren, Fräulein POPPE (Max-Planck-Institut für Biochemie, München) für die Aufnahme der IR-Spektren. Bei der Synthese der Modellverbindungen war uns Fräulein SCHÜTZ eine große Hilfe. Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danken wir für finanzielle Unterstützung.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Protonenresonanzspektren wurden in einem Varian-60-Spektrographen mit Tetramethylsilan als innerem Standard in trockenem Pyridin gemessen. Im Bereich von 0.1—0.36 m konnten wir keine Konzentrationsabhängigkeit der ppm-Werte feststellen. Die Infrarotspektren wurden in einem Perkin-Elmer-21-Spektrographen nach der KBr-Methode gemessen.

Alle UV-Daten beziehen sich auf Messungen in Äthanol. Zur Dünnschichtchromatographie (Abkürzung DC) verwendeten wir Kieselgel HF₂₅₄ „Merck“. Anfärbt wurden die Substanzen durch Besprühen mit einer Lösung aus 20 Teilen konz. Schwefelsäure und 5 Teilen einer 25-proz. Vanillinlösung in Äthanol.

Tigogeninacetat (II): 3 g *Hecogenin* wurden in 70 ccm Diäthylenglykol mit 7 g KOH und 5.5 ccm 80-proz. *Hydrazinhydrat* 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde der Kühler abgenommen und die Lösung solange weitererhitzt, bis die Dampftemperatur auf 200° gestiegen war. Anschließend hielt man die Temperatur noch weitere 3 Stdn. auf 200°. Nach Abkühlen wurde das Gemisch in 200 ccm Wasser eingegossen, mit verd. Salzsäure angesäuert und mit Methylchlorid ausgeschüttelt. Die Methylchloridlösung wurde mit Hydrogencarbonatlösung neutral gewaschen. Das Rohprodukt wurde mit 15 ccm Pyridin und 10 ccm *Acetanhydrid* bei Raumtemperatur über Nacht stengelassen und wie üblich aufgearbeitet. Das rohe *Tigogeninacetat* ließ sich aus Methanol/Essigester umkristallisieren. Schmp. 204 bis 206°. Das Produkt war im DC (CH₂Cl₂/Aceton/Äthanol 80:16:4) einheitlich und mit einer authentischen Probe¹⁴⁾ (Schmp. 202°) identisch.

Cholen-(9(11))-ol-(3 α)-on-(12)-säuremethylester-acetat-äthylenmercaptol (XXII): Eine Mischung von 1.44 g III, 3 ccm Äthandithiol-(1.2) und 0.5 ccm BF₃-Ätherat wurde 2 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Zusatz von 20 ccm Äther wurde die Lösung mit Wasser und Hydrogencarbonatlösung gewaschen. Durch Zugabe einer gesätt. ätherischen HgCl₂-Lösung ließ sich überschüssiges Äthandithiol ausfällen. Nach Filtration wurde die Ätherlösung mit Wasser, konz. Kaliumjodidlösung und gesätt. NaCl-Lösung gewaschen. Das Rohprodukt ist ein farbloses Öl; nach Umkristallisieren aus wenig Methanol erhielten wir ein mikrokristallines Produkt. Das IR-Spektrum zeigte keine Ketonbande mehr. Ausb. 530 mg. Schmp. 120–122°.

24-Nor-5 β -cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12)-äthylenmercaptol (XXIII): 470 mg des Esters XXII in 45 ccm absol. Äther wurden innerhalb von 40 Min. in eine schwach erwärmte Lösung von 36 mMol *Methylmagnesiumjodid* in 30 ccm Äther getropft. Dann erhitze man noch 30 Min. unter Rückfluß, versetzte in der Kälte mit Ammoniumchloridlösung, arbeitete wie üblich auf und kochte den Rückstand anschließend 1 Stde. mit 30 ccm methanolischer 1 *n* KOH unter Rückfluß. Nach Verdünnen mit Wasser wurde mit Äther extrahiert. Wir erhielten 248 mg eines festen, nicht kristallisierbaren Produkts; das IR-Spektrum spricht für das Vorliegen der angegebenen Struktur.

24-Nor-5 β -cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12) (V): Eine Suspension von 219 mg Äthylenmercaptol XXIII, 250 mg *Quecksilber(II)-chlorid* und 250 mg *Cadmiumcarbonat* in 20 ccm Aceton und 1 ccm Wasser wurde 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stdn. waren weitere 100 mg HgCl₂ und 100 mg CdCO₃ hinzugefügt worden. Die filtrierte Lösung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 20 ccm Äther aufgenommen und erneut filtriert. Die Ätherlösung hinterließ nach mehrfachem Waschen mit konz. KJ-Lösung und dann mit konz. NaCl-Lösung einen Rückstand, der auf Dünnschichtplatten gereinigt wurde (CH₂Cl₂/Aceton/Methanol 90 : 5 : 5). Umkristallisation aus Äthanol ergab 44 mg farblose Kristalle. Schmp. 218–220°. $[\alpha]_D^{25}$: +81° (*c* = 2, Äthanol).

24-Homo-desoxycholsäure-methylester (XXVI): 47.0 g *Desoxycholsäurechlorid-diformiat* (XXIV) in 120 ccm absol. Benzol wurden innerhalb von 30 Min. unter Rühren und Eiskühlung in eine Lösung von 0.4 Mol *Diazomethan* in Äther getropft. Nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wurden die Lösungsmittel i. Vak. abgezogen und der sirupöse Rückstand in 80 ccm Methanol gelöst. Nach Filtrieren und Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. blieben 39.5 g des rohen Diazoketons zurück. Die Substanz wurde in 250 ccm Methanol auf 60° erwärmt und innerhalb von 90 Min. eine Suspension von 3 g frisch gefälltem *Silberoxyd* in wenig Methanol in kleinen Portionen einpipettiert. Nach 8stdg. Kochen unter Rückfluß wurde das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen, der Rückstand in 200 ccm Äther und 10 ccm Methanol gelöst und über eine kurze Al₂O₃-Säule filtriert. Der Rückstand wurde in 150 ccm 1 *n* methanol. KOH 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt und der größte Teil des Lösungsmittels i. Vak. abgezogen. Nach Verdünnen mit Wasser konnten neutrale Anteile mit Äther extrahiert werden. Die wäßr. Phase wurde angesäuert, das anfallende gelbe Öl abgetrennt und mehrfach mit Wasser gewaschen. Zur Veresterung ließen wir die rohe Säure 24 Stdn. mit 250 ccm 1-proz. *methanolischer Salzsäure* bei Raumtemperatur stehen. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert, der Rückstand in Äther aufgenommen und mit Hydrogencarbonatlösung neutral gewaschen. Das Rohprodukt (27.5 g) wurde an 520 g Al₂O₃ (Akt.-St. III) chromatographiert. Benzol/Äther (1 : 2) eluierte 10.88 g XXVI. Schmp. 80–81°.

24-Homo-desoxycholsäure-methylester-3-monocathylat (XXVII): 2.81 g des Esters XXVI in 15 ccm Pyridin wurden unter Kühlung mit 2.2 g *Chlorameisensäure-äthylester* versetzt. Nach 6 Stdn. bei Raumtemperatur folgte die übliche Aufarbeitung. Umkristallisation aus Methanol ergab 538 mg XXVII vom Schmp. 138–141°. Man kann die Substanz auch roh weiterverarbeiten und auf die verlustreiche Umkristallisation verzichten.

24-Homo-cholan-ol-(3 α)-on-(12)-säuremethylester-cathylat (XXVIII): 10.09 g XXVII in 160 ccm Eisessig wurden mit einer Lösung von 4.0 g K_2CrO_4 in 13 ccm Wasser versetzt und 24 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. bei 40° weitgehend abdestilliert und nach Ausfällen mit Wasser die Substanz abgesaugt. Umkristallisieren aus Methanol erbrachte 6.44 g XXVIII vom Schmp. 156–159°.

24-Homo-cholen-(9(11))-ol-(3 α)-on-(12)-säuremethylester-cathylat (XXIX): 6.4 g XXVIII wurden mit 4.5 g Selendioxyd in 70 ccm Eisessig 19 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde filtriert und mit 250 ccm Wasser versetzt. Es schied sich ein Öl ab, das innerhalb einiger Stdn. kristallisierte. Die Kristalle wurden mit Wasser gewaschen und in 50 ccm Eisessig gelöst. Nach Zugabe von 1.5 g Chromtrioxyd und 5 ccm Wasser stand die Lösung 5 Stdn. bei Raumtemperatur. Beim Verdünnen mit Wasser fiel das Produkt aus und konnte aus Methanol umkristallisiert werden. Ausb. 2.06 g XXIX vom Schmp. 182–183°. λ_{\max} 238 m μ ($\epsilon = 11100$).

5 β -Cholesten-(9(11))-diol-(3 α .25)-on-(12) (XVII): Eine Mischung von 1.5 g des Ketons XXIX, 2.5 ccm Äthandithiol-(1.2) und 0.3 ccm BF_3 -Ätherat wurde 1.5 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Übliche Aufarbeitung und Chromatographie an Al_2O_3 (Akt.-St. II) lieferte mit Benzol 871 mg farbloses Öl, das im IR-Spektrum keine Ketonbande mehr zeigte. In 40 ccm absol. Äther wurde es innerhalb von 50 Min. zu einer siedenden Lösung von 42 mMol Methylmagnesiumjodid in 35 ccm Äther getropft. Nach 30 min. Erhitzen unter Rückfluß wurde in üblicher Weise mit Ammoniumchloridlösung aufgearbeitet. Wir erhielten 626 mg rohes Produkt.

Davon wurden 586 mg in 50 ccm Aceton gelöst, mit 2.5 ccm Wasser, 400 mg $HgCl_2$ und 400 mg $CdCO_3$ versetzt und die Suspension 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stdn. waren weitere 200 mg $HgCl_2$ und 200 mg $CdCO_3$ zugefügt worden. Nach Aufarbeitung wie bei V führten wir eine präparative Trennung an Dünnschicht-Kieselgelplatten durch. Im System CH_2Cl_2 /Aceton/Äthanol (80 : 10 : 10) wurde die Hauptzone um den R_F -Wert 0.4 mit Methanol eluiert und der Rückstand aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 40 mg XVII vom Schmp. 128–129°. $[\alpha]_D^{25}$: +105° ($c = 2.5$, Äthanol).

24-Nor-5 β -cholesten-(9(11))-triol-(3 α .7 α .25)-on-(12) (XVIII): Eine Mischung von 1.0 g XXX¹⁷⁾, 1 ccm Äthandithiol-(1.2) und 0.5 ccm BF_3 -Ätherat wurde 1 Stde. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die Aufarbeitung wie bei XXII ergab 950 mg Rohprodukt (im IR keine Ketonbande mehr), das innerhalb von 30 Min. in 20 ccm absol. Äther zu einer siedenden Lösung von 10 mMol Methylmagnesiumjodid in 10 ccm Äther getropft wurde. Man kochte noch 30 Min. unter Rückfluß und arbeitete mit Ammoniumchloridlösung auf.

Das Rohprodukt wurde in 20 ccm Aceton und 1 ccm Wasser entschwefelt, wie bei XVII beschrieben. Dünnschichtchromatographische Reinigung (CH_2Cl_2 /Aceton/Äthanol 80 : 10 : 10) ergab 30 mg XVIII. Aus Methylenechlorid erhielten wir 21 mg Kristalle vom Schmp. 155–156°.

5 α -Cholesten-(7)-ol-(3 β)-on-(6)-acetat (VII) und 5 α -Cholesten-(7)-dion-(3.6) (XIX): Zu 1.0 ccm BF_3 -Ätherat in 5 ccm Diglyme (Diäthylenglykoldimethyläther) tropfte man 171 mg Natriumborhydrid in 4.5 ccm Diglyme zu. Das entstehende Diboran trieb ein Stickstoffstrom in die Lösung von 1.71 g Cholestadien-(5.7)-acetat (XXXI) in 25 ccm absol. Diglyme. Um alles B_2H_6 zu überführen, wurde das Entwicklungsgefäß noch 20 Min. auf 50° erwärmt. Die Steroidlösung wurde anschließend 2 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt, dann unter Eiskühlung mit 15 ccm 5-proz. Natronlauge innerhalb von 5 Min. versetzt und nach Entfernen der Eiskühlung 5 ccm Perhydrol zugegeben. Nach 5 min. Rühren bei Raumtemperatur wurde in 50 ccm Äther gegossen, 20 ccm gesätt. NaCl-Lösung zugegeben, die ätherische Schicht abgetrennt und die wäbr. Schicht zweimal mit Äther extrahiert. Die Ätherlösungen wurden mit Wasser, 5-proz. $FeSO_4$ -Lösung und Wasser gewaschen.

Die Hälfte des Rohprodukts wurde in 50 ccm Aceton gelöst und die Lösung mit Eiswasser gekühlt. Innerhalb von 20 Min. wurde dann 1 ccm 8 *n* Chromsäurelösung (Kiliani-Lösung: 267 g CrO₃, gelöst in einem Gemisch von 400 ccm Wasser und 230 ccm konz. Schwefelsäure, mit Wasser auf einen Liter aufgefüllt) tropfenweise zugegeben, anschließend 15 Min. unter Kühlung gerührt und in 150 ccm Wasser gegossen. Die wäbr. Lösung wurde mit Äther extrahiert und die Ätherlösung mit Hydrogencarbonat neutral gewaschen. Die 800 mg Rohprodukt zeigen im DC (Essigester/Cyclohexan 25 : 75) im UV-Licht drei Flecken. Trennung an 50 g Al₂O₃ (Akt.-St. III) ergab mit Äther/Petroläther (6 : 94) zunächst 255 mg *VII* vom Schmp. 150–152° (Lit.⁷): Schmp. 152–153°.

Dann eluierten wir mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch 30 mg einer nicht aufgeklärten Substanz (λ_{\max} 235 m μ) und mit Äther schließlich 200 mg *XIX*.

Die andere Hälfte des Hydroborierungsrückstandes wurde 20 Stdn. mit 10 g aktivem Mangandioxyd¹⁸) in 100 ccm Chloroform bei Raumtemperatur gerührt. Die filtrierte Lösung wurde eingedampft, der Rückstand acetyliert und aufgearbeitet. In diesem Fall erhielten wir 360 mg *VII* und 90 mg *XIX* vom Schmp. 211–213° (Lit.⁸): 212–214°.

5 α -Cholesten-(7 β)-ol-(3 β)-on-(6) (*XX*): 116 mg *VII* wurden in 11 ccm Methanol suspendiert und mit 35 mg Kaliumcarbonat und 0.7 ccm Wasser über Nacht unter Stickstoff gerührt. Nach Neutralisation mit Eisessig fielen mit Wasser 92 mg Kristalle aus, die im DC (CH₂Cl₂/Aceton/Äthanol 70 : 28 : 2) einheitlich waren. Schmp. 195–196°.

27-Nor-5 α -cholestan-diol-(3 β .20 ξ)-on-(25)-3-acetat-äthylenacetal (*XXXIII*): 20 g *5-Chlorpenta-non-(2)-äthylenacetal* wurden zu 3.2 g mit Jod aktivierten *Magnesiumspänen* in 100 ccm absol. Tetrahydrofuran langsam zugetropft. Der Ansatz wurde dann 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 30 Min. unter Rückfluß gekocht. In diese Lösung wurden 10 g *5 α -Pregnan-ol-(3 β)-on-(20)* (*XXXII*), gelöst in 80 ccm Tetrahydrofuran, unter Rühren eingetropft. Anschließend wurde 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung mit Ammoniumchloridlösung stand der Rückstand in 50 ccm Pyridin mit 30 ccm *Acetanhydrid* über Nacht. Nach Abdestillieren von Pyridin und Acetanhydrid i. Vak. wurde der Rückstand in Methanol gelöst. Beim Verdünnen mit Wasser schied sich das Steroid ab. Chromatographie des Niederschlags an 600 g Kieselgel (5% Wassergehalt) ergab mit Petroläther (80 : 20) Ausgangssubstanz (*XXXII*); mit Petroläther/Äther (50 : 50) ließen sich 8.9 g des gewünschten Produktes (*XXXIII*) eluieren. Nach Umkristallisieren aus Petroläther erhielten wir farblose Kristalle vom Schmp. 127–128°.

27-Nor-5 α -cholestanol-(3 β)-on-(25)-acetat (*XXXIV*): 600 mg *XXXIII* in Pyridin wurden mit 0.6 ccm *POCl₃* versetzt. Nach 30 min. Erhitzen unter Rückfluß wurde in Eis/Natriumhydrogencarbonatlösung eingegossen und i. Wasserstrahlvak. das Pyridin mit einem Teil des Wassers entfernt. Das Steroid war aus der Lösung mit Methylenechlorid extrahierbar. Nach Abdestillieren des Methylenechlorids blieben 510 mg kristallisiertes Rohprodukt. Aus Methanol kamen farblose Kristalle vom Schmp. 102–105°. Das IR-Spektrum der Substanz zeigt bei 907 und 860/cm die Deformationschwingungsbanden der olefinischen C–H-Bindung der beiden entstandenen Doppelbindungsisomeren.

510 mg des Olefin-Isomeregemisches wurden in 20 ccm Essigester mit einem Tropfen 70-proz. Perchlorsäure und 150 mg Adams-Katalysator versetzt. Die Doppelbindung nahm unter Schütteln bei Raumtemperatur und Normaldruck 27 ccm *Wasserstoff* auf, danach wurde vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Das Gemisch der beiden an C-20 isomeren Verbindungen schmolz zwischen 107 und 115°. Das Produkt wurde in 20 ccm Aceton mit 0.06 ccm konz. Schwefelsäure in 4 ccm Wasser versetzt. Nach 30 Stdn. bei Raumtemperatur wurde in 200 ccm Hydro-

gencarbonatlösung gegossen und mit Methylenchlorid extrahiert. Wir erhielten 457 mg Rückstand. Nach Umkristallisieren aus Methanol war die Substanz im DC einheitlich (Cyclohexan/Essigester 70 : 30). Schmp. 117–130°. (Das große Schmelzpunktsintervall ist auf das Vorhandensein der beiden C-20-Isomeren zurückzuführen.)

5 α -Cholestan-diol-(3 β .25)-3-monoacetat (XVI): In 15 ccm einer 1.3 m ätherischen *Methylmagnesiumjodid*-Lösung wurden unter Wasserkühlung 681 mg XXXIV in 15 ccm absol. Äther getropft und nach 2 stdg. Kochen unter Rückfluß mit Ammoniumchloridlösung aufgearbeitet. Die wäßr. Phase wurde mit Äther extrahiert, das Rohprodukt in 15 ccm Pyridin gelöst und mit 3 ccm Acetanhydrid über Nacht aufbewahrt. Beim Eingießen in Wasser fiel das Steroid aus und konnte mit Methylenchlorid extrahiert werden. Nach den üblichen Reinigungsschritten wurde der Rückstand an Kieselgel (5% Wassergehalt) chromatographiert. Mit Petroläther/Äther (80 : 20) wurden 506 mg Substanz eluiert, die nach mehrfachem Umkristallisieren aus Petroläther den Schmp. 126–128° zeigten (Lit.¹⁹): 124–125°.

[502/64]