

O-Acetylderivate charakterisiert. Der Vergleich der isolierten Mengen an  $C_{21}$ -Geninen mit denjenigen der Cardenolide erlaubt den Schluss, dass die Blätter der Pflanze neben Glykosiden des Digitoxigenins mindestens gleiche Mengen an herzwirksamen Glykosiden, die sich von den erwähnten  $C_{21}$ -Geninen ableiten, enthalten.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

### 84. Zwei isomere Lactone aus $3\alpha$ -Acetoxy- $5\beta$ -androstan-dion-(11,17).

Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe, 94. Mitteilung<sup>1)</sup>

von A. Lardon, J. Schmidlin, A. Wettstein und T. Reichstein.

(13. III. 57.)

Kürzlich zeigten *Wendler* und Mitarb.<sup>2)</sup>, dass  $3\alpha$ -Acetoxy- $5\beta$ -androstan-dion-(11,17) (I) bei Einwirkung von Benzopersäure in Benzol in das Lacton II übergeht. Dieses Lacton II wird durch Einwirkung von Alkali zu einer ungesättigten Säure V aufgespalten, wodurch seine Konstitution bewiesen wurde.

Anlässlich von Versuchen zur Teilsynthese von Aldosteron haben wir die Einwirkung von Benzopersäure auf das Diketon I ebenfalls durchgeführt<sup>4)</sup>. In Eisessig-Chloroform bei  $35^{\circ}$  und in Gegenwart von *p*-Toluolsulfosäure<sup>5)</sup> erhielten wir ausser II in kleinerer Menge ein isomeres Lacton, dem die Formel IV zukommen dürfte. Die Trennung gelang durch fraktionierte Kristallisation. Eine Chromatographie an  $SiO_2$  war ohne wesentliche Verluste möglich, doch wurde keine brauchbare Trennung erzielt. Hingegen wurden beim Kontakt mit  $Al_2O_3$  beide Lactone allmählich zu Säuren aufgespalten, die sich erst nach Zusatz von Eisessig aus der Säule ablösen liessen<sup>6)</sup>. II lieferte dabei eine Säure, der wir die Konstitution VI zuschreiben und die wir

<sup>1)</sup> 93. Mitteilung: *J. v. Euw, R. Neher & T. Reichstein* *Helv.* **38**, 1423 (1955).

<sup>2)</sup> *N. L. Wendler, D. Taub & H. L. Slates*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 3559 (1955).

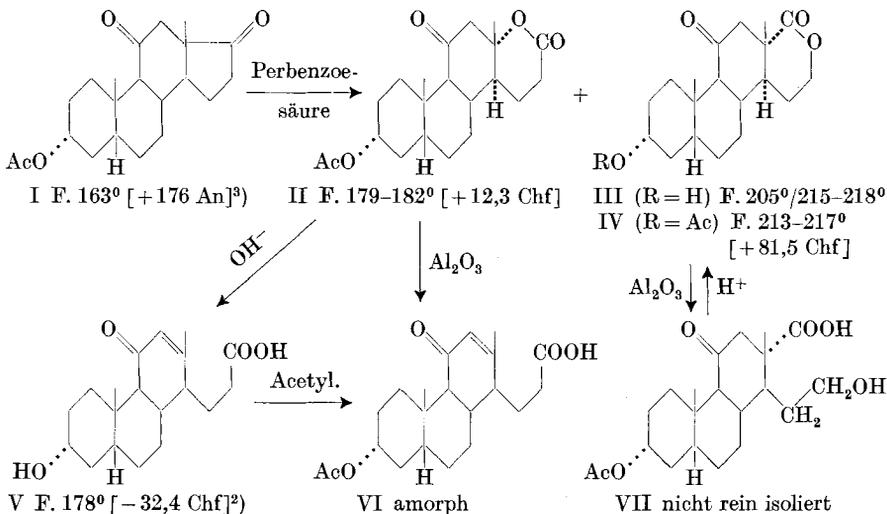
<sup>3)</sup> a) *L. H. Sarett*, *J. biol. Chemistry* **162**, 601 (1946). Bezüglich der Drehung vgl. auch b), *S. Lieberman & K. Dobriner*, *J. biol. Chemistry* **166**, 773 (1946). c) *S. Lieberman, K. Dobriner, B. R. Hill, L. F. Fieser & C. P. Rhoads*, *J. biol. Chemistry* **172**, 263 (1948). d) *H. L. Herzog, M. A. Jevnik, P. L. Perlman, A. Nobile & E. B. Hershberg*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 266 (1953). e) *M. Finkelstein, J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **36**, 1266 (1953).

<sup>4)</sup> Diese Versuche waren abgeschlossen, bevor die Publikation von *Wendler* und Mitarb.<sup>2)</sup> erschien.

<sup>5)</sup> Vgl. *H. Levy & R. P. Jacobsen*, *J. biol. Chemistry* **171**, 71 (1947); *G. M. Picha*, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 703 (1952); *J. Fried, R. W. Thoma & A. Klingsberg*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5764 (1953); *D. H. Peterson, S. H. Eppstein, P. D. Meister, H. C. Murray, H. M. Leigh, A. Weintraub & L. M. Reineke*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5768 (1953).

<sup>6)</sup> Dies erlaubt, das Oxydationsgemisch auf evtl. noch vorhandenes Ausgangsmaterial I zu prüfen.

bisher nur in amorpher Form erhalten konnten. Sie zeigte im UV.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei  $236\text{ m}\mu$ ,  $\log \varepsilon = 3,96^7$ ). Ein Präparat mit gleichen Eigenschaften entstand auch durch Acetylierung der krist. Hydroxysäure V<sup>2</sup>). Auch bei kurzem Stehen von II mit überschüssigem NaOH in Methanol bei  $20^\circ$  scheint zuerst Säure VI zu entstehen, die erst nachträglich zu V verseift wird.



Die aus IV mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  entstehende Säure VII bildete bereits beim Eindampfen der Lösung das Lacton IV zurück, das sich auf diese Art relativ leicht reinigen liess. Der Angriff der Benzopersäure auf I erfolgte demnach zur Hauptsache gleich wie bei anderen 17-Ketosteroiden<sup>8</sup>).

Beide Lactone (II und IV) gaben erwartungsgemäss bei der *Zimmermann*-Reaktion<sup>9</sup> keine Färbung. Mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$ <sup>10</sup> liefert II eine intensiv blaue Fluoreszenz im UV.-Licht, während I und IV dabei praktisch keine Färbung geben.

Ein ähnliches Resultat wie mit Perbenzoesäure wurde auch mit überschüssiger Acetopersäure in Eisessig erhalten; auf die präparative Isolierung des Nebenprodukts IV wurde in diesem Falle verzichtet.

### Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Es gelten die folgenden Abkürzungen: Ae = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Wa = Wasser.

Umsetzung von  $3\alpha$ -Acetoxy- $5\beta$ -androstandion-(11,17) (I) mit Benzopersäure. 1,7 g  $3\alpha$ -Acetoxy- $5\beta$ -androstandion-(11,17) (I) vom Smp.  $159\text{--}163^\circ$  wurden

<sup>7</sup>) *Wendler* und Mitarb.<sup>2</sup>) fanden für die krist. Hydroxysäure V  $\lambda_{\text{max}} = 237\text{ m}\mu$ ,  $\log \varepsilon = 4,08$ .

<sup>8</sup>) *M. F. Murray, B. A. Johnson, R. L. Pederson & A. C. Ott*, J. Amer. chem. Soc. **78**, 981 (1956); frühere Lit. daselbst sowie bei *Wendler* und Mitarb.<sup>2</sup>).

<sup>9</sup>) *L. R. Axelrod*, J. biol. Chemistry **205**, 173 (1953).

<sup>10</sup>) *R. Neher & A. Wettstein*, Helv. **34**, 2278 (1951).

in 40 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit der Lösung von 3,5 g Benzopersäure in 50 cm<sup>3</sup> Chf sowie mit 100 mg p-Toluolsulfosäure versetzt und 2 Tage im Dunkeln bei 35° stehengelassen. Dann wurde mit Wa verdünnt, bei 0° mit überschüssigem KJ versetzt und konz. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung zugetropft, bis die Jodfarbe eben verschwunden war (ohne diese Massnahme wurde viel zu viel neutrales Rohprodukt erhalten, das sich schlecht reinigen liess). Dann wurde mit viel Ae ausgeschüttelt. Die mit Wa, Sodalösung und Wa gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ae-Lösung gab beim Eindampfen 1,85 g Rohprodukt. Sorgfältige, relativ mühsame fraktionierte Kristallisation aus An-Ae gab 670 mg rohes Lacton II vom Smp. 165–180° und 470 mg rohes Lacton IV vom Smp. 170–190°.

Umsetzung von 3 $\alpha$ -Acetoxy-5 $\beta$ -androstandion-(11,17) (I) mit Acetopersäure. Einer Lösung von 347 mg 3 $\alpha$ -Acetoxy-5 $\beta$ -androstandion-(11,17) und 19 mg p-Toluolsulfosäure-monohydrat in 2,1 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden 2,94 cm<sup>3</sup> 1,70-m. Acetopersäurelösung in Eisessig zugesetzt und die Reaktionsmischung 66 Std. bei 20° im Dunkeln stehen gelassen. Durch eine erste Zugabe von 7,5 cm<sup>3</sup> Wa entstand ein lockerer Kristallbrei. Nach 30 Min. Stehen wurde durch eine Glassinternutsche abgesaugt, das Kristallisat nacheinander mit 5 cm<sup>3</sup> 40-proz. Essigsäure und 10 cm<sup>3</sup> Wa gewaschen (letzteres separat aufgefangan) und getrocknet. Beim langsamen Zusetzen von weiteren 15 cm<sup>3</sup> Wa zur Mutterlauge konnte in analoger Weise eine zweite Kristallfraktion gewonnen werden. Man erhielt so 98 mg Kristalle vom Smp. 159–171° und 175 mg Kristalle vom Smp. 160–171°. Die verbleibende Mutterlauge zusammen mit dem Waschwasser wurde im Vakuum unter weiterem Wasserzusatz von der Hauptmenge der Essigsäure befreit und alsdann mit Ae-Be-Gemisch-(1:2) ausgeschüttelt. Die mit 0,5-n. KJ-, 0,1-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>- und 0,5-n. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung sowie mit Wa gewaschenen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Extrakte hinterliessen beim Eindampfen noch 80 mg farblosen, teilweise kristallisierenden Rückstand.

Zur Charakterisierung wurden die erhaltenen drei Anteile des Reaktionsproduktes zunächst papierchromatographisch untersucht. Als geeignet erwiesen sich in erster Linie die Lösungsmittelsysteme *Bush* B<sub>3</sub> und Formamid/Cyclohexan (40°). Mit dem für I verhältnismässig empfindlichen Reagens von *Zimmermann*<sup>9)</sup> konnten im Reaktionsprodukt bloss noch geringe Mengen Ausgangsmaterial festgestellt werden. Mit Phosphorsäure<sup>10)</sup> liess sich, wie die anschliessende präparative Auftrennung zeigte, als Hauptkomponente in allen drei Fraktionen das im Vergleich zu I etwas stärker polare Lacton II als im UV.-Licht intensiv blau fluoreszierender Fleck nachweisen.

3 $\alpha$ -Acetoxy-11-keto-13 $\alpha$ -hydroxy-13,17-seco-5 $\beta$ -androstan-17-säurelacton-(17  $\rightarrow$  13) (II). a) *Aus Versuch mit Benzopersäure*. Mehrmaliges Umkristallisieren des Rohproduktes aus An-Ae gab farblose Plättchen, Smp. 179–182°,  $[\alpha]_D^{25} = +12,3^0 \pm 2^0$  (c = 1,215 in Chf). Zur Analyse Trocknung 2 Std. bei 0,01 Torr und 50°.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (362,45) Ber. C 69,58 H 8,34% Gef. C 69,28 H 8,34%

b) *Aus Versuch mit Acetopersäure*. Die vereinigten Kristallfraktionen (271 mg) und der Mutterlaugeanteil (73 mg) wurden gesondert der Verteilungschromatographie an Papier unterworfen. Als stationäre Phase verwendeten wir Formamid, als mobile Cyclohexan-Benzol-Gemisch-(1:1). Die Eluate aus der Hauptzone lieferten nach Behandeln mit Aktivkohle und Umkristallisieren aus Ae insgesamt 207 mg reines Lacton II vom Smp. 178–181°,  $[\alpha]_D^{24} = +15^0 \pm 3^0$  (c = 0,998 in Chf).

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (362,45) Ber. C 69,58 H 8,34% Gef. C 69,28 H 8,55%

3 $\alpha$ -Acetoxy-11-keto-16-hydroxy-16,17-seco-5 $\beta$ -androstan-17-säurelacton-(17  $\rightarrow$  16) (IV). a) *Direkt isoliert*. Mehrmaliges Umkristallisieren des Rohproduktes aus An-Ae gab farblose Nadeln, Smp. 213–217°,  $[\alpha]_D^{26} = +55,0^0 \pm 4^0$  (c = 0,490 in Chf). Trocknung zur Analyse wie oben.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (362,45) Ber. C 69,58 H 8,34% Gef. C 69,31 H 8,62%

b) *Aus Mutterlauge via Hydroxysäure VII*. 133 mg rohes Lacton IV (Mutterlauge-substanz des obigen Analysenpräparates) wurden mit der Lösung von 12 mg NaOH in 4,5 cm<sup>3</sup> Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 3 cm<sup>3</sup> Wa versetzt, das Me im Vakuum entfernt und die wässrige Lösung mit Ae ausgeschüttelt. Trocknen und Eindampfen gab 9 mg neutralen Rückstand (unreines Ausgangsmaterial I). Die alkalische

Lösung wurde mit HCl angesäuert und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die mit Wa gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 113 mg Rohprodukt, das teilweise kristallisierte. Es wurde wieder in Chf-Ae gelöst und mehrmals mit 2-n. Sodalösung und Wa ausgeschüttelt. Aus diesen Auszügen liessen sich insgesamt 32 mg rohe Säure V gewinnen. Die neutralen Anteile (72 mg) gaben aus An-Ae 60 mg Hydroxylacton III in farblosen Nadeln mit Doppel-Smp. 205—207°/215—218°. Misch-Smp. mit IV 170—180°.

35 mg Hydroxylacton III vom Smp. 205—207°/215—218° wurden mit 0,2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 16 Std. bei 20° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 38 mg Rohprodukt. Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 213—217°,  $[\alpha]_D^{25} = +57,20 \pm 2^0$  (c = 0,873 in Chf). Misch-Smp. mit dem Analysenpräparat gleich.

3 $\alpha$ -Hydroxy-11-keto-13,17-seco-5 $\beta$ -androst-12-en-17-säure (V)<sup>2</sup>. 275 mg Lacton II vom Smp. 168—178° (nicht ganz rein) wurden mit der Lösung von 35 mg Natrium in 10 cm<sup>3</sup> Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Aufarbeitung wie oben gab 8 mg neutrale Anteile (unreines Ausgangsmaterial I) und 240 mg Rohprodukt aus angesäuert alkalischer Phase (Lactone + Säure). Diese wurde im Vakuum ½ Std. auf 50° erwärmt, in Chf-Ae aufgenommen und wieder mit Sodalösung und Wa ausgeschüttelt. Es verblieben 8 mg rohes Lacton (verworfen) und 228 mg rohe Säure. Aus An-Pe 210 mg farblose Körner. Smp. 178—180°,  $[\alpha]_D^{25} = -31,6^0 \pm 3^0$  (c = 0,758 in Chf),  $\lambda_{\text{max}} = 236 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,12$ , in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Wendler & Mitarb.*<sup>3</sup>.)

3 $\alpha$ -Acetoxy-11-keto-13,17-seco-5 $\beta$ -androst-12-en-17-säure (VI). a) 100 mg Lacton II wurden in abs. Be gelöst, auf eine mit Be bereitete Säule von 5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (neutral) gegeben und 4 Std. bei 20° stengelassen. Dann wurde mit Be, Ae, und Chf gewaschen, die kein wägbares Material ablösten. Nachwaschen mit Me-Eisessig-(9:1) eluierte rasch. Das Rohprodukt wurde in Chf-Ae-(1:3) aufgenommen, mit verd. HCl und Wa gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (98 mg) war ein farbloses Glas,  $\lambda_{\text{max}} = 236,5 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,0$ .

b) 110 mg Lacton II wurden in 1 cm<sup>3</sup> Me gelöst, mit der Lösung von 20 mg Na in 1,5 cm<sup>3</sup> Me, dann mit 1 cm<sup>3</sup> Wa versetzt und 10 Min. bei 20° stengelassen. Die Aufarbeitung gab keine wägbare Menge neutraler Anteile, aber 106 mg farblose Säure. UV-Absorptionsspektrum  $\lambda_{\text{max}} = 236,5 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,10$ , ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$  (362,45). Dieses Präparat dürfte etwas Hydroxysäure V enthalten haben, kristallisierte aber bisher nicht.

c) 120 mg Hydroxysäure V wurden mit 1 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,8 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 16 Std. bei 20° stengelassen. Dann wurde 1 cm<sup>3</sup> Wa zugesetzt und 1 ½ Std. auf 100° erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab 136 mg Rohprodukt, das praktisch nur saure Anteile enthielt. Es war leicht gelblich gefärbt und kristallisierte bisher nicht.

Verhalten des Lactons IV gegenüber  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . 530 mg Gemisch von wenig Diketon I mit den Lactonen II und IV wurden wie oben an 15 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  adsorbiert und 2 Tage bei 20° stengelassen. Nachwaschen mit Be, Ae und Chf eluierte 184 mg rohes I. Nachwaschen mit Me-Eisessig-(9:1) gab 310 mg Rohprodukt. Es wurde in Chf-Ae gelöst, zuerst gut mit HCl, dann mit Sodalösung und Wa gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Das Neutralprodukt (110 mg) gab aus An-Ae 80 mg Lacton IV in Nadeln vom Smp. 208—213°; Misch-Smp. mit dem Analysenpräparat ohne Depression. Aus der Sodalösung liessen sich 200 mg Säure VI isolieren; sie zeigte  $\lambda_{\text{max}} = 236 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,96$ .

### Zusammenfassung.

Die Einwirkung von Benzopersäure in Eisessig und Chloroform oder Acetopersäure in Eisessig auf 3 $\alpha$ -Acetoxy-5 $\beta$ -androstandion-(11,17) in Gegenwart von Toluolsulfosäure gab zwei struktur-isomere Lactone II und IV.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*,  
Basel, Pharmazeutische Abteilung.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.