

SUMMARY

The synthesis of the tetracyclic skeleton of ecdysone with correct stereochemistry and substitution is described. 22,25-Didehydroxy-ecdysone and methyl (20S)-2 β ,3 β -dihydroxy-6-oxo-5 β -pregn-7-ene-20-carboxylate have been prepared. The latter is a key intermediate in the synthesis of ecdysone.

Hauptlaboratorium der SCHERING AG, Berlin
Chemische Forschungsabteilung
der F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AG, Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. WIECHERT, U. KERB, P. HOCKS, A. FURLENMEIER, A. FÜRST, A. LANGEMANN & G. WALDVOGEL, *Helv.* **49**, 1581 (1966).
 [2] J. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & F. S. SPRING, *J. chem. Soc.* **1937**, 801.
 [3] M. P. HARTSHORN & A. F. A. WALLIS, *J. chem. Soc.* **1962**, 3839.
 [4] J. M. HEILBRON, H. JACKSON, E. R. H. JONES & F. S. SPRING, *J. chem. Soc.* **1938**, 102.
 [5] D. H. R. BARTON & C. H. ROBINSON, *J. chem. Soc.* **1954**, 3045.
 [6] A. ZÜRCHER, H. HEUSSER, O. JEGER & P. GEISTLICH, *Helv.* **37**, 1562 (1954).
 [7] J. B. SIDDALL, J. P. MARSHALL, A. BOWERS, A. D. CROSS, J. A. EDWARDS & J. H. FRIED, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 379 (1966).
 [8] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **46**, 2054 (1963).
 [9] A. WINDAUS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **36**, 3752 (1903).
 [10] U. KERB, P. HOCKS, R. WIECHERT, A. FURLENMEIER, A. FÜRST, A. LANGEMANN & G. WALDVOGEL, *Tetrahedron Letters* **1966**, 1387.
 [11] F. W. LICHTENTHALER, *Chem. Ber.* **96**, 845 (1963).

181. Zur Synthese des Ecdysons

IV. Mitteilung über Insektenhormone¹⁾

Die Synthese des natürlichen Häutungshormons

von U. Kerb²⁾, G. Schulz³⁾, P. Hocks³⁾, R. Wiechert²⁾,
A. Furlenmeier³⁾, A. Fürst³⁾, A. Langemann³⁾ und G. Waldvogel³⁾

(14. V. 66)

Der Aufbau des Grundgerüsts von Ecdyson mit einer sterischen Anordnung der Substituenten und des Ringsystems, die jener im natürlichen Häutungshormon entspricht, ist in den vorangehenden Arbeiten [1]⁴⁾ beschrieben worden. Zur Vollendung der Synthese stellte sich nur noch das Problem des Aufbaues der Seitenkette aus einem (20S)-20-Carbonsäure-methylester.

Die alkalische Hydrolyse der sterisch gehinderten 20-Carbomethoxy-Gruppierung [3] in der Verbindung **1** erforderte energische Reaktionsbedingungen [4] [5], denen

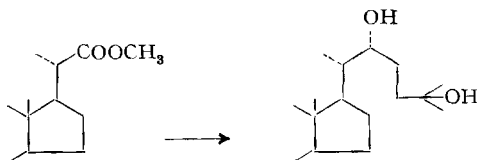
¹⁾ III. Mitteilung: A. FURLENMEIER *et al.* [1].

²⁾ Hauptlaboratorium der SCHERING AG, Berlin.

³⁾ Chemische Forschungsabteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co., AG, Basel.

⁴⁾ II. Mitteilung: R. WIECHERT *et al.* [2].

das empfindliche Δ^7 -6-Keto-System nicht standhielt. Ausserdem wäre die selektive Verseifung des C-20-Methylesters neben den beiden Acetatgruppen mit Alkali nicht möglich. Durch Halolyse [6] [7] hingegen gelang die selektive Überführung des (20S)-2 β ,3 β -Diacetoxy-6-oxo-5 α -pregn-7-en-20-carbonsäure-methylesters (**1**) in die benötigte 2 β ,3 β -Diacetoxy-carbonsäure **2**. Bei der Behandlung von **1** mit Lithiumjodid in Lutidin entstand unter teilweiser Inversion an den Asymmetriezentren 5 und



20 das Gemisch der vier isomeren Carbonsäuren, aus welchem durch Chromatographie die Säuren **2** und **3** der A|B-*cis*-Serie abgetrennt wurden. Dass es sich bei **2** um die (20S)-Carbonsäure der 5 β -Reihe handelte, zeigte die Lage der Signale der 18-CH₃-Gruppe, bzw. der H-Atome am C-2 und C-3 im NMR.-Spektrum [1] (Tabelle). Ebenso ging aus der Lage der Signale der H-Atome am C-2 und C-3 im NMR.-Spektrum der Säure **3** deren Zugehörigkeit zur 5 β -Reihe hervor. Dazu bestätigte die paramagnetische Verschiebung der 18-CH₃-Gruppe in der Verbindung **3** gegenüber der Säure **2** die Konfiguration der (20R)-Carbonsäure, wobei das vinylische Proton am C-7 dieser Verbindung gegenüber der Säure **2** weniger abgeschirmt ist.

Chemische Verschiebungen der beiden Carbonsäuren 2 und 3 und des Aldehyds 4

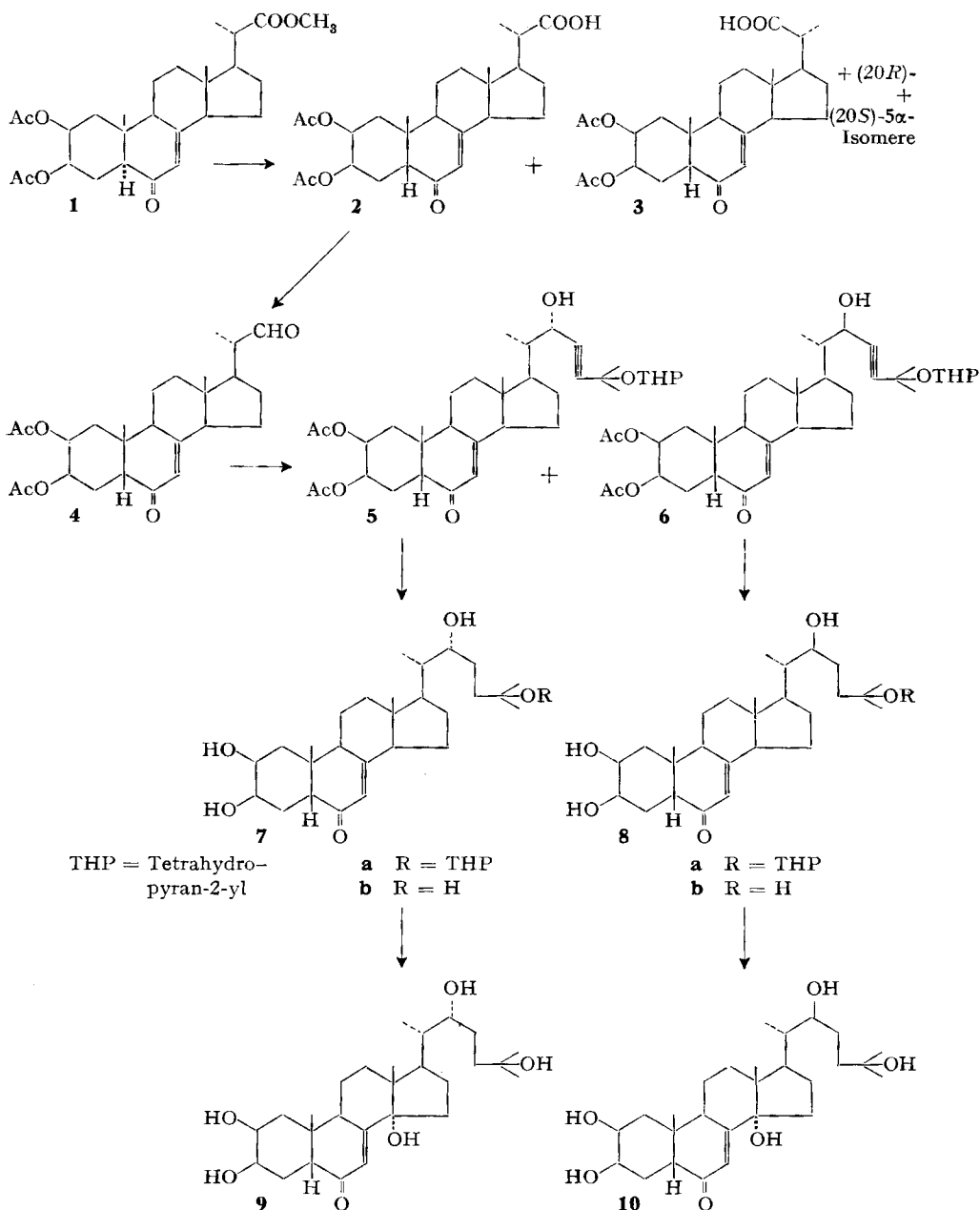
Verbindung	18-CH ₃	19-CH ₃	H-2	H-3	H-7	
2	0,65	1,05	4,95–5,50 ^{a)}		5,75	
3	ca. 1,0	ca. 1,0	4,90–5,30	5,40	5,90	
				H _w = 8	H _w = 6	
4	0,67	1,05	4,85–5,25	5,35	5,72	H-Aldehyd 9,65 <i>d</i>
				H _w = 8	H _w = 5	<i>J</i> = 2,5 Hz

d = Dublett, H_w = Halbwertsbreite (in Hz).

^{a)} Jeder Teil des Dubletts ist nochmals stark aufgespalten und besitzt eine H_w von 8 Hz.

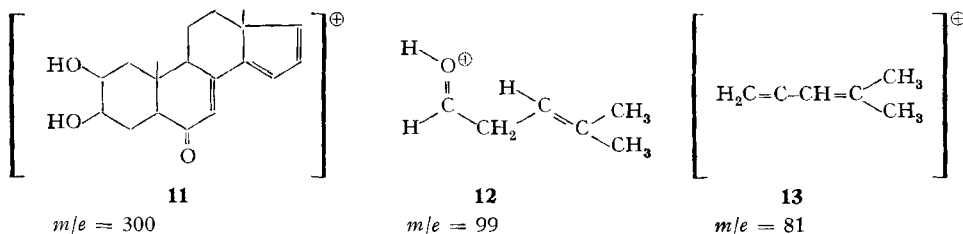
Die Carbonsäure **2** mit der gewünschten Konfiguration haben wir durch Behandlung mit Carbonyldiimidazol nach STAAB [8] in das Säureimidazolid übergeführt und dieses mit LiAlH(*t*-BuO)₃ bei Raumtemperatur selektiv zum 20-Aldehyd **4** reduziert. Diese Modifikation der STAAB'schen Aldehydsynthese [9] war notwendig, da Lithiumaluminiumhydrid selbst bei –60° bevorzugt mit der Keto- und den beiden Acetoxygruppen reagierte. Die unveränderten Konfigurationen am C-5 und C-20 waren aus den NMR.-Daten ersichtlich.

Der Aufbau des erforderlichen Seitenketten-Teilstückes erfolgte durch selektive Umsetzung des Aldehyds **4** mit [3-Methyl-3-(tetrahydropyran-2-yloxy)-1-butinyl]-magnesiumbromid [10]. Bei kurzer Einwirkungsdauer und tiefen Temperaturen reagierte überschüssiges GRIGNARD-Reagens weder mit den Acetoxygruppen noch mit der 6-Ketogruppe. Durch chromatographische Trennung in die beiden am C-22 epimeren Alkohole **5** und **6**, Hydrierung der Dreifachbindung mit Platin in Methanol und milde alkalische Hydrolyse wurden die isomeren Trioie **7a** bzw. **8a** erhalten. Die



anschliessende saure Spaltung des Tetrahydropyranyläthers führte zu den Tetrolen **7b** und **8b**. Den Abschluss der Synthese bildete die Einführung der 14α -Hydroxyl-Gruppe durch allylische Oxydation mit Selendioxid [1]. Aus den Umsetzungen der Verbindungen **7a** und **7b** resultierte das Ecdyson (**9**), aus **8a** und **8b** das C-22-Isoecdyson (**10**). Die geringe Acidität der selenigen Säure reichte zur Spaltung des C-25-

Äthers aus. Während im Massenspektrum des Ecdysons kein Molekelsignal bei 464 beobachtet wird, tritt dieses bei C-22-Isoecdyson schwach auf. Im übrigen sind die Massenspektren der beiden Verbindungen **9** und **10** recht ähnlich; beide zeigen das intensivste Signal im oberen Massenbereich bei der Massenzahl 428 ($M-2H_2O$) und ein sehr intensives Signal bei $m/e = 300$ (Fragment **11**). Im unteren Massenbereich treten starke Signale bei $m/e = 99$ und 81 auf, die durch die Fragmente **12** und **13** bedingt sein könnten.



Das synthetische Ecdysion (**9**) gab mit der aus Puppen des Seidenspinners isolierten Substanz⁵⁾ keine Schmelzpunktsdepression und war mit dieser auch in allen übrigen physikalischen Eigenschaften (UV., IR., NMR., MS.) identisch [11]⁶⁾. Auch die biologische Prüfung im *Calliphora*-Test [12] ergab die erforderliche Aktivität.

Wir danken Dr. A. JÄGER für die biologische Prüfung. Auch für die Mikroanalysen (Dipl.-Ing. J. HUBER), die Bestimmung der UV.- und IR.-Spektren (Dr. W. NEUDERT und Dr. G. CLEVE, sowie die ausgezeichnete präparative Mitarbeit (M. STAHNKE und M. THIEL) möchten wir unseren Dank aussprechen.

Experimenteller Teil

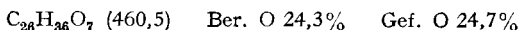
Alle Smp. sind unkorrigiert. – Die UV.-Spektren wurden in Feinsprit, die NMR.-Spektren mit einem VARIAN-A-60-Spektrometer in $CDCl_3$ (falls nicht anders vermerkt) aufgenommen, wobei die chemischen Verschiebungen in ppm (Tetramethylsilan (TMS) = 0) angegeben werden. Die Massenspektren wurden mit einem ATLAS-CH-4-Massenspektrometer aufgenommen. Für die präparative Dünnschichtchromatographie benutzten wir Kieselgel PF₂₅₄ (MERCK).

(20S)-2 β ,3 β -Diacetoxy-6-oxo-5 β -pregn-7-en-20-carbonsäure (**2**) und (20R)-2 β ,3 β -Diacetoxy-6-oxo-5 β -pregn-7-en-20-carbonsäure (**3**). In einem 250-ml-Kolben wurden 13 g Lithiumjodid (ca. 2H₂O enthaltend) bei 180° und 0,02 Torr entwässert. Nach dem Abkühlen fügte man 100 ml 2,4-Lutidin und 10 g Methyl ester **1** hinzu und erhitze in einer Argonatmosphäre 2 Std. unter Rückfluss. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, in 1000 ml Eiswasser und 100 ml konz. Salzsäure eingerührt und mit ca. 400 g NaCl ausgesalzt. Das abgenutzte Reaktionsprodukt wurde in Methylenchlorid gelöst und die Lösung getrocknet und eingedampft. Man chromatographierte den Rückstand (11 g) an der 100fachen Menge Silicagel (10% H₂O enthaltend), wobei durch Elution mit Methylenchlorid-Eisessig 99,5:0,5 (1000-ml-Fractionen) eine Auftrennung in die 5 α - und 5 β -isomeren Carbonsäuregemische erzielt werden konnte. Das Gemisch der gewünschten Verbindungen **2** und **3** war in den Fractionen 60–80 enthalten. Dünnschichtchromatogramm: Chloroform-Eisessig 99,5:0,5. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel und Entfernung der Essigsäure durch azeotrope Destillation mit Tetrachlorkohlenstoff resultierten 4,2 g des Säuregemisches. Die Trennung der am C-20 isomeren Verbindungen **2** und **3** erfolgte durch eine weitere Chromatographie an der 200fachen Menge Silicagel. Mit Tetrachlorkohlenstoff-Methanol 98:2 (1000-ml-Fractionen) wurde zuerst die Säure **3** im Gemisch mit wenig **2** eluiert und anschließend

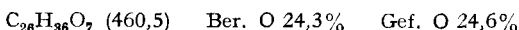
⁵⁾ Wir danken Herrn Prof. P. KARLSON für eine authentische Probe.

⁶⁾ Kurz nach unserer I. Mitteilung [13] wurde eine weitere Ecdysion-Synthese bekannt gegeben [11].

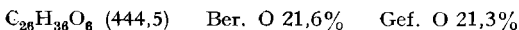
in den Fraktionen 35–66 reines **2** (Ausbeute 15%). Smp. 245–247° (aus Aceton-Hexan); UV.: $\epsilon_{246} = 14800$.



Die Verbindung **3** schmolz bei 205,5–208° (aus Aceton-Hexan); UV.: $\epsilon_{248} = 15700$.



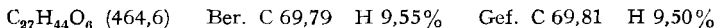
(20S)-2 β ,3 β -Diacetoxy-20-formyl-5 β -pregn-7-en-6-on (**4**). 1,9 g **2** wurden in 38 ml abs. Tetrahydrofuran mit 10 g Carbonyldiimidazol 20 Min. unter Rückfluss erhitzt. Die Lösung rührte man in Eiswasser, säuerte mit Salzsäure an, sättigte mit NaCl und trennte das ausgefallene Imidazolid ab. Nach dem Trocknen wurde das rohe Imidazolid (2,01 g) in 40 ml abs. Tetrahydrofuran mit 2 g LiAlH(*t*-BuO)₃ 1 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde in Eiswasser eingegossen, mit Salzsäure angesäuert und nach Zusatz von Natriumacetat als Puffer mit Methylenechlorid extrahiert, neutral gewaschen und eingedampft. Durch Chromatographie an Silicagel mit Methylenechlorid-Chloroform 1:1 wurde der Aldehyd **4** abgetrennt und aus Aceton-Hexan umkristallisiert (Ausbeute 50%). Smp. 200–202°; UV.: $\epsilon_{246} = 14000$.



(22R)-2 β ,3 β -Diacetoxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2-yloxy)-5 β -cholest-7-en-23-in-6-on (**5**) und (22S)-2 β ,3 β -Diacetoxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2-yloxy)-5 β -cholest-7-en-23-in-6-on (**6**). Zu einer Lösung von Äthylmagnesiumbromid (hergestellt aus 488 mg Magnesium und 1,68 ml Äthylbromid in 25 ml Äther) wurden 3,86 ml 2-Methyl-3-butin-2-ol-tetrahydropyran-2-yläther in 20 ml Tetrahydrofuran getropft und 30 Min. gerührt. Diese GRIGNARD-Lösung wurde in eine eisgekühlte Lösung aus 820 mg Aldehyd **4** in 20 ml Tetrahydrofuran getropft und noch 5 Min. gerührt. Man versetzte das Reaktionsgemisch mit Ammoniumchlorid-Lösung und arbeitete wie üblich auf, wonach durch Kristallisation aus Äther-Pentan 180 mg der Verbindung **6** vom Smp. 172–173° isoliert wurden. Aus der Mutterlauge konnten durch Chromatographie an Silicagel mit dem Elutionsmittel Tetrachlorkohlenstoff-Essigester 70:30 260 mg des gewünschten Alkohols **5** vom Smp. 175–178° (aus Hexan-Äther) und 540 mg des Gemisches von **5** und **6** erhalten werden.

(22S)-2 β ,3 β ,22-Trihydroxy-25-(tetrahydropyran-2-yloxy)-5 β -cholest-7-en-6-on (**8a**). 153,2 mg der Verbindung **6** wurden in 10 ml Methanol mit 40 mg Platinoxid hydriert, bis die Wasserstoffaufnahme beendet war. Nach üblicher Aufarbeitung und präparativer Dünnschichtchromatographie wurden 20 mg des Triols **8a** vom Smp. 147–150° (aus Aceton) erhalten. UV.: $\epsilon_{257} = 14100$. Massenspektrum (*t* ~ 190°): 532 (3), 514 (0,5), 448 (7), 431 (18), 430 (26), 413 (28), 412 (19), 395 (7), 361 (10), 332 (25), 277 (13), 99 (100), 85 (92).

(22R)-2 β ,3 β ,14,22,25-Pentahydroxy-5 β ,14 α -cholest-7-en-6-on (**9**) (Ecdyson). 227 mg des Alkohols **5** wurden in 10 ml Methanol mit 120 mg Platinoxid hydriert und aufgearbeitet. Durch präparative Dünnschichtchromatographie konnten 116 mg des Triols **7a** isoliert werden. 100 mg des Produktes erhitzte man in 2 ml Dioxan mit 100 mg Selendioxid 1,5 Std. auf 90° und liess noch 17 Std. bei Raumtemperatur stehen. Das gewünschte Produkt wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie aus der Reaktionslösung isoliert. Nach Umkristallisieren aus Essigester-Tetrahydrofuran wurden 35 mg Ecdyson (**9**) mit dem Smp. 232–233° erhalten. UV.: $\epsilon_{242} = 11900$. Massenspektrum (*t* ~ 190°): 446 (3), 428 (29), 418 (2), 413 (2), 410 (3), 372 (3), 359 (4), 348 (8), 330 (15), 315 (18), 300 (23), 279 (17), 267 (5), 255 (8), 250 (13), 249 (10), 99 (100), 81 (61).



(22R)-2 β ,3 β ,22,25-Tetrahydroxy-5 β -cholest-7-en-6-on (**7b**) und (22S)-2 β ,3 β ,22,25-Tetrahydroxy-5 β -cholest-7-en-6-on (**8b**). 540 mg des Gemisches von **5** und **6** wurden in 15 ml Methanol mit 135 mg Platinoxid nach Zusatz von 0,25 ml 1N Essigsäure hydriert, wobei die Acetoxygruppen nicht angegriffen wurden. Nach üblichem Aufarbeiten liessen sich durch präparative Dünnschichtchromatographie die beiden 2 β ,3 β -Diacetyl-derivate der Verbindungen **7a** und **8a** trennen.

a) 115 mg Diacetat der Verbindung **7a** wurden in 10 ml Methanol mit 30 mg Kaliumhydroxid 45 Min. bei Raumtemperatur gerührt, wie üblich aufgearbeitet und chromatographiert. Man isolierte 40 mg des Triols **7a**, die zur Entfernung der Schutzgruppe mit 1 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 1 ml Tetrahydrofuran während 15 Min. bei Raumtemperatur behandelt, aufgearbeitet und dann chromatographiert wurden. Nach Umkristallisieren aus Tetrahydrofuran-Essigester wurden 12 mg der Verbindung **7b** vom Smp. 214–215,5° erhalten.

b) 260 mg Diacetat der Verbindung **8a** wurden wie oben unter a) beschrieben zum Tetrol **8b** umgesetzt. Nach Umkristallisieren aus Aceton erhielt man 26 mg vom Smp. 207–210°.

(22S)-2 β ,3 β ,14,22,25-Pentahydroxy-5 β ,14 α -cholest-7-en-6-on (**10**). 18 mg **8b** wurden in 1 ml Dioxan mit 18 mg Selendioxyd 1 Std. auf 90° erhitzt und das erhaltene Produkt analog wie für Ecdyson (**9**) beschrieben isoliert. Nach Umkristallisieren aus Aceton wurden 6 mg C-22-Isoecdyson (**10**) vom Smp. 227–230° erhalten. Massenspektrum ($t \sim 250^\circ$): 464 (1), 446 (11), 428 (37), 413 (7), 410 (12), 395 (4), 377 (4), 372 (4), 359 (5), 348 (3), 330 (14), 327 (8), 300 (29), 279 (12), 229 (14), 211 (18), 99 (100), 81 (57).

C₂₇H₄₄O₆ (464,6) Ber. C 69,79 H 9,55% Gef. C 69,61 H 9,91%

SUMMARY

Ecdysone (**9**), a hormone responsible for the skin shedding process of *arthropoda*, has been synthesized. (20S)-2 β ,3 β -Diacetoxy-20-formyl-5 β -pregn-7-en-6-one was prepared from the corresponding carboxylic acid and converted into ecdysone by a GRIGNARD reaction with 2-methyl-3-butyn-2-ol tetrahydropyran-2-yl ether, followed by hydrogenation of the triple bond, removal of the protecting groups, and hydroxylation in the 14 α -position. C-22-isoecdysone was obtained as a by-product.

Hauptlaboratorium der SCHERING AG, Berlin
Chemische Forschungsabteilung
der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. FURLENMEIER, A. FÜRST, A. LANGEMANN, G. WALDVOGEL, P. HOCKS, U. KERB & R. WIECHERT, *Helv.* **49**, 1591 (1966).
- [2] R. WIECHERT, U. KERB, P. HOCKS, A. FURLENMEIER, A. FÜRST, A. LANGEMANN & G. WALDVOGEL, *Helv.* **49**, 1581 (1966).
- [3] W. COLE & P. L. JULIAN, *J. Amer. chem. Soc.* **67**, 1369 (1945).
- [4] E. FERNHOLZ, *Liebigs Ann. Chem.* **507**, 128 (1933).
- [5] R. HAYATSU, *Chem. pharmaceut. Bull. (Tokyo)* **5**, 452 (1957).
- [6] E. TASCHNER & B. LIBEREK, *Roczniki Chemii* **30**, 323 (1956).
- [7] F. ELSINGER, J. SCHREIBER & A. ESCHENMOSER, *Helv.* **43**, 113 (1960).
- [8] H. A. STAAB, M. LÜKING & F. H. DÜRR, *Chem. Ber.* **95**, 1275 (1962).
- [9] H. A. STAAB & H. BRÄUNLING, *Liebigs Ann. Chem.* **654**, 119 (1962).
- [10] K. KNÖCHEL, Diplomarbeit, Technische Universität Berlin, 1965.
- [11] J. B. SIDDALL, A. D. CROSS & J. H. FRIED, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 862 (1966).
- [12] P. KARLSON & G. HANSER, *Z. Naturforsch.* **7b**, 80 (1952).
- [13] U. KERB, P. HOCKS, R. WIECHERT, A. FURLENMEIER, A. FÜRST, A. LANGEMANN & G. WALDVOGEL, *Tetrahedron Letters* **1966**, 1387.