

SYNTHESE, STEREOCHEMIE UND PHOTOCHEMIE VON 3 β ,16 α ,20-TRIHYDROXYLIERTEN 22.26-EPIMINO-5 α -CHOLESTAN-DERIVATEN*¹

G. ADAM, D. VOIGT† und K. SCHREIBER

Institut für Biochemie der Pflanzen, Halle/S.,
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, DDR

(Received in Germany 20 October 1970; Received in the UK for publication 5 November 1970)

Abstract—Stereoisomer 22.26-epimino-5 α -cholestane-3 β ,16 α , 20-triol derivatives have been synthesized and their stereochemistry discussed. Photolysis of the corresponding N-nitroso and N-chloro amines under acid conditions as well as alkaline catalysed heterolysis of the N-chloro amines gives, under fission between C-20 and 22, 20-keto pregnanes.

VERBINDUNGEN des 22,26-Epimino-cholestan-Typs besitzen eine Schlüsselstellung bei der Totalsynthese von Steroidalkaloiden der Spirosolan- und Solanidan-Reihe und dürften weiterhin bei der Biogenese von *Solanum*- und *Veratrum*-Alkaloiden von Bedeutung sein.² Darüber hinaus wurden in letzter Zeit eine Reihe von Verbindungen dieses Strukturtyps aus Pflanzen isoliert. ‡

Unter diesen Aspekten wurden von uns Untersuchungen zur Synthese, Stereochemie und Chemie von 16 α -¹⁰ und 16 β -hydroxylierten¹¹ sowie von 16-unsubstituierten¹² 22,26-Epimino-5 α -cholestan-3 β -olen durchgeführt, wobei sich für den Auf- und Abbau bestimmter Alkaloidtypen der Einsatz neuer photochemischer Reaktionen sehr bewährte.¹³⁻¹⁶

Im folgenden wird über Aufbau, sterische Zuordnung und photochemische Umsetzungen von 20-hydroxylierten 22,26-Epimino-5 α -cholestan-3 β ,16 α -diolen berichtet.

Als Ausgangsmaterial diente (20R)-3 β ,16 α -Diacetoxy-20-[5-methyl-pyridyl-(2)]-pregn-5-en-20-ol (I), das auf bekanntem Wege¹⁰ aus 3 β ,16 α -Diacetoxy-pregn-5-en-20-on¹⁷ zugänglich ist.

Bei katalytischer Hydrierung von I mit PtO₂ in Eisessig entsteht unter Aufnahme von 4 Mol. Wasserstoff ein Gemisch der an C-25 stereoisomeren (22S)-3 β ,16 α -Diacetoxy-22,26-epimino-5 α -cholestan-20-ole II und VIII. Säulenchromatographie an Kieselgel unter Verwendung von ammoniakhaltigem Chloroform/Benzin ergab als Hauptprodukt das (22S:25S)-O.O-Diacetat II (Ausbeute 74%) neben dem

* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. K. Mothes zum 70. Geburtstag gewidmet.

† Teil der Dissertation D. Voigt, Univ. Halle 1970.

‡ Im einzelnen handelt es sich um folgende Vertreter: Tomatillidin und 5,6-Dihydro-tomatillidin aus *Solanum tomatillo* (Phillipi).^{3,4} Solacongestidin, Solafloridin, 23-Oxo- und 24-Oxo-solacongestidin aus *Solanum congestiflorum* Dun. DC..⁵ Solaphyllidin aus *Solanum hypomalacophyllum* Bitter.⁶ Verazin aus *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth.⁷ Die in der letztgenannten Pflanze weiterhin vorkommenden *Veratrum*-Alkaloide Veralkamin⁸ und Veralinin⁹ sind gerüstumgelagerte 22,26-Epimino-5 α -cholestane mit 18-nor-17 β -Methyl-17-iso-Struktur.

entsprechenden, durch partielle Verseifung an der Säule entstandenen O(3)-Monoacetat III (Ausbeute 5%). Die als zweites Stereoisomeres bei der Hydrierung als Nebenprodukt gebildete (22*S*:25*R*)-Verbindung VIII geht im Verlauf der Säulenchromatographie vollständig in das O(3)-Monoacetyl-Derivat IX über (Ausbeute 4%). Die Struktur der Verbindungen II, III sowie VIII und IX wurde durch physikalische Daten bestätigt: Das Hauptprodukt II zeigt im Anionen-Massenspektrum neben dem das Molekulargewicht beweisenden $M^- - 1$ -Peak bei m/e 516 Peaks bei m/e 419 ($M^- - 98$) und 375 ($M^- - 142$), die auf eine für Verbindungen mit 22,26-Epimino-5 α -cholestan-Seitenkette charakteristische Fragmentierung zwischen C-20 und C-22 bzw. C-17 und C-20 zurückzuführen sind.^{8,18} Im IR-Spektrum (Nujol) finden sich Banden bei 1260 und 1728 (Estercarbonyl), 3355 (sek. NH) und 3515 cm^{-1} (t-OH).

Im 100-MHz-NMR-Spektrum von II treten 3-Protonen-Singulets bei 0.81, 0.89, 1.29 (19-, 18- und 21-H₃), 2.00 und 2.04 (O(3)- und O(16)-Acetyl-H₃), ein Septett bei 4.68 (3 α -H; $J_{aa} = 10$ Hz, $J_{ae} = 5$ Hz) und ein Triplet bei 5.35 (δ) ppm (16 β -H; $J = 6$ Hz) auf.

Verseifung von II mit 5-proz. methanol. Kalilauge ergab nahezu quantitativ das 3 β .16 α .20-Triol IV mit IR-Banden bei 3322 (NH) und 3425 cm^{-1} (OH).

Die bei der Säulenchromatographie weiterhin erhaltenen Verbindungen III und IX erwiesen sich als stereoisomere 3 β -Monoacetoxy-Verbindungen der Bruttozusammensetzung C₂₉H₄₉NO₄. Das (22*S*:25*S*)-Monoacetat III mit IR-Banden bei 1253 und 1740 (O-Acetyl), 3319 (sek. NH) und 3435 cm^{-1} (OH) zeigt in Anionen-Massenspektrum neben dem $M^- - 1$ -Peak bei m/e 474 charakteristische Fragmentierungspeaks bei m/e 377 ($M^- - 98$) und 333 ($M^- - 142$). Auch das 100-MHz-NMR-Spektrum von III steht mit der angenommenen Struktur im Einklang und ermöglicht eine Klärung der Frage, ob die 3 β - oder 16 α -Hydroxy-Gruppe frei vorliegt. Neben den Singulets bei 0.80, 0.87 und 1.23 (δ) ppm (19-, 18- und 21-H₃) tritt im Acetylbereich lediglich ein 3-Protonen-Signal bei 1.99 ppm auf. Im Vergleich zum Diacetat II erscheint das Septett des 3 α -ständigen Protons unverändert bei 4.68 ppm. Dagegen findet man das 16 β -H-Signal jetzt um etwa 1 ppm nach höherem Feld verschoben. Analoge Befunde werden auch für die (22*S*:25*R*)-Monoacetoxy-Verbindung IX erhalten. Eine unabhängige Bestätigung dieser Resultate ergibt sich aus Berechnungen von molaren Rotationsdifferenzen: Bei der Verseifung von III und IX erhält man die Triole IV und X, wobei die auftretenden molaren Rotationsdifferenzen von $\Delta[M]_D + 54^\circ$ ($[M]_D$ IV + 24° - $[M]_D$ III - 30°) bzw. + 31° ($[M]_D$ X - 57° - $[M]_D$ IX - 88°) mit dem für eine Verseifung der 3 β -Acetoxy-Gruppierung bei 5 α -Steroiden bekannten Inkrement von $\Delta[M]_D + 29^\circ$ korrespondieren. Dagegen wäre bei Verseifung einer 16 α -Acetoxy-Gruppierung ein $\Delta[M]_D$ -Wert von ca + 240° zu erwarten.^{19,*}

Acetylierung der Mono- und Diacetoxy-Verbindungen III, IX und II mit Acetanhydrid-Pyridin bei Raumtemperatur führt zu den O,O,N-Triacetoxy-Derivaten XIII bzw. XV, deren anschließende partielle Verseifung mit 1-proz. methanol.

* In Übereinstimmung damit und den hier abgeleiteten Strukturen wird für den Übergang von 3 β .16 α -Diacetat II zum Monoacetat III eine molare Rotationsdifferenz $\Delta[M]_D + 259^\circ$ ($[M]_D$ III - 30° - $[M]_D$ II - 289°) errechnet.

Kalilauge die entsprechenden N-Acetyl-Verbindungen XIV bzw. XVI mit N-Acetyl-Banden um 1620 cm^{-1} liefert.*

Zur Ermittlung der Raumstruktur an C-22 wurden in früheren Untersuchungen bei 22.26-Epimino-cholestanen ohne 20-Hydroxy-Gruppe Messungen von Cotton-Effekten entsprechender N-Chloramino-Derivate bzw. die bei ihrer Darstellung auftretenden molaren Rotationsdifferenzen herangezogen. Hierbei ist die (22R)-Konfiguration durch einen positiven, die (22S)-Raumstruktur durch einen negativen Cotton-Effekt zwischen 260 und 280 nm gekennzeichnet.²² Analoge Vorzeichen wurden bei den molaren Rotationsverschiebungen beobachtet.^{11, 13}

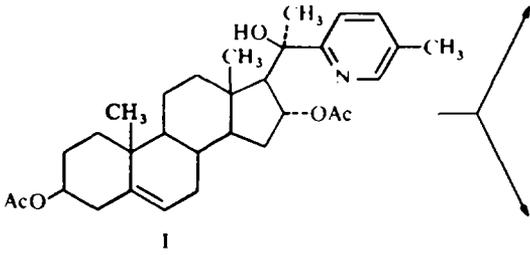
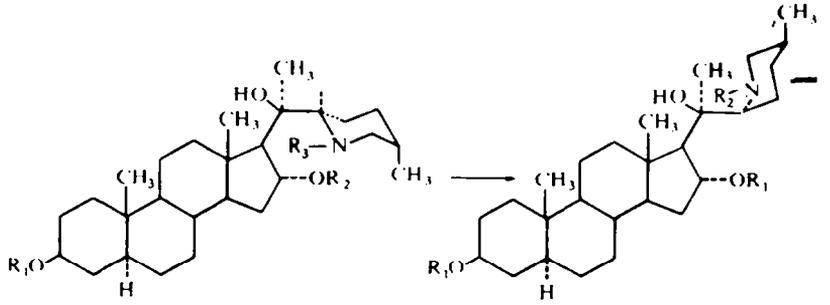
Diese Korrelation ist auf das 20-hydroxylierte Epiminocholestan II und seine Derivate nicht übertragbar. Obwohl die aus II bzw. IV durch Umsetzung mit N-Chlor-succinimid in etwa 90-proz. Ausbeute gewonnenen N-Chloramine V und VI positive Cotton-Effekte ($\alpha = +14$ bzw. $+31$) sowie entsprechende positive molare Rotationsdifferenzen aufweisen, kommt dieser sterischen Reihe nach einer unabhängig am Hydrojodid des Triols IV durchgeführten Röntgenkristallstrukturanalyse²³ die (22S)-Konfiguration zu. Eine ähnliche Vorzeichenumkehr des Cotton-Effektes wurde bereits früher²⁴ bei (22R:23S:25R)-22.26-Chlorepinino-3 β .16 β -diacetoxy-5 α -cholestan-23-ol beobachtet, das ebenso wie die hier gewonnenen 20-hydroxylierten Epiminocholestane eine OH-Gruppe in β -Stellung zum Stickstoff aufweist.

Die konfigurative Zuordnung der Verbindung II und seiner Derivate an C-25 ergibt sich aus folgenden Befunden: Wie durch NMR-Untersuchungen an Spirostanen und Spirosolanen gezeigt wurde, erscheint das Dublett der axialen C-27-Methyl-Gruppe bei etwa 1.00 (δ) ppm, das entsprechende Signal der äquatorialen Methylgruppe bei etwa 0.80 (δ) ppm ($J = 5-7$ Hz).^{25, 26} Die 100-MHz-NMR-Spektren der 3 β .16 α -Diacetoxy- und der 3 β -Monoacetoxy-Verbindungen II und III zeigen C-27-Methyl-Dubletts bei 1.03 bzw. 1.06 (δ) ppm, wodurch das Vorliegen einer axialen Methylgruppe und in Verbindung mit der ermittelten (22S)-Konfiguration²³ die (25S)-Raumstruktur bewiesen wird.

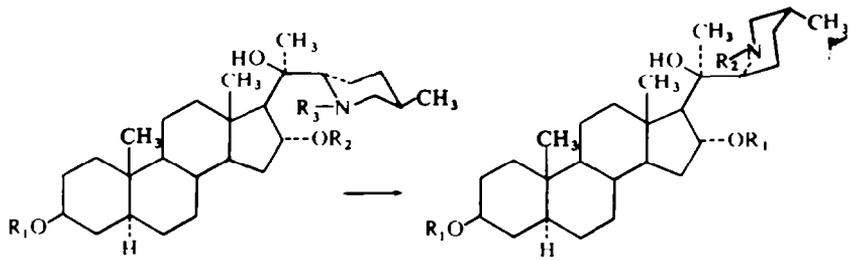
Auch bei N-Chlorierung des stereoisomeren Triols X sind positiver Cotton-Effekt ($\alpha = +7$) und molare Rotationsdifferenz zu beobachten, so dass wir auch für diese sterische Reihe die (22S)-Konfiguration annehmen. Im 100-MHz-NMR-Spektrum von IX findet man ein C-27-Methyl-Dublett bei 0.82 (δ) ppm, was eine äquatoriale Methylgruppe an C-25 und bei Vorliegen einer (22S)-Konfiguration die (25R)-Raumstruktur beweist.

In früheren Untersuchungen wurde gezeigt,^{13, 15} dass N-Nitroso-22.26-epimino-5 α -cholestan-3 β .16 β -diol bei UV-Bestrahlung in äthanol. Salzsäure Ringschlussreaktion zu entsprechenden Spirosolan-Alkaloiden eingehen. Die eigentliche Photoreaktion besteht hierbei in der Eliminierung von HNO unter Bildung eines cyclischen Azomethins, das in einer Dunkelreaktion zum Spiroaminoketal cyclisiert. Im Hinblick auf diese Untersuchungen war von Interesse, ob auch bei 20-hydroxylierten N-Nitroso-epimino-cholestanen die photochemische

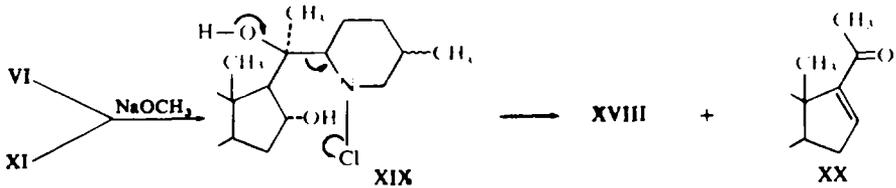
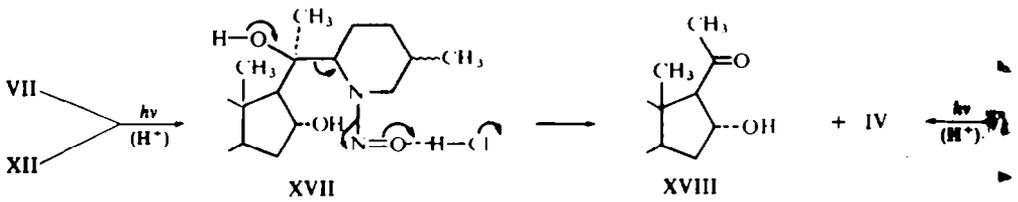
* Nach NMR-Untersuchungen an einfachen 2-alkylierten N-Acetyl-piperidinen²⁰ und N-acetylierten Veratramin-Derivaten²¹ soll zwischen dem äquatorialen 2-Substituenten und der N-Acetyl-Gruppe sterische Hinderung auftreten, die zur Ausbildung der Sesselkonformation mit axialer 2-Alkyl-Gruppe führt. Auf Grund dieser Befunde nehmen wir auch für die N-acetylierten Verbindungen XIII-XIV und XV-XVI die in den Formeln dargestellte Piperidinkonformation mit axialer C(20)-C(22)-Bindung an.



- II: $R_1 = R_2 = \text{Ac}, R_3 = \text{H}$
- III: $R_1 = \text{Ac}, R_2 = R_3 = \text{H}$
- IV: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
- V: $R_1 = R_2 = \text{Ac}, R_3 = \text{Cl}$
- VI: $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{Cl}$
- VII: $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{NO}$
- XIII: $R_1 = R_2 = \text{Ac}$
- XIV: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Ac}$



- VIII: $R_1 = R_2 = \text{Ac}, R_3 = \text{H}$
- IX: $R_1 = \text{Ac}, R_2 = R_3 = \text{H}$
- X: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
- XI: $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{Cl}$
- XII: $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{NO}$
- XV: $R_1 = R_2 = \text{Ac}$
- XVI: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Ac}$



Einführung einer C=N-Doppelbindung möglich ist. Die benötigten Nitrosamine VII und XII wurden in üblicher Weise durch Umsetzung von IV und X mit Natriumnitrit in Eisessig erhalten und besitzen charakteristische UV-Maxima um 240 und 350 nm ($\log \epsilon$ 3.7 bzw. 2.0). Beide N-Nitrosamine zeigen Cotton-Effekte von entgegengesetztem Vorzeichen ($z = +35$ bzw. $a = -32$) bei 350 nm.* Während das N-Nitrosamin VII bei UV-Bestrahlung in absol. Äthanol unter Argon auch nach 5 Stunden Bestrahlungsdauer unverändert vorlag, erfolgte in 0.07 n absol. Äthanol. Salzsäure innerhalb 30 Min. rasche Photoreaktion. Als Hauptprodukt wurde in 95-proz. Ausbeute eine Verbindung vom Schmp. 261–262° und $[\alpha]_D + 55.9^\circ$ isoliert, die sich nach Misch-Schmp., R_f -Wert und IR-Spektrum mit authent. 3 β .16 α -Dihydroxy-5 α -pregnan-20-on (XVIII)^{28, 29} als identisch erwies. Daneben waren dünnschichtchromatographisch geringe Mengen des Ausgangsamins IV nachweisbar. Ein analoges Ergebnis wurde bei UV-Bestrahlung des stereoisomeren N-Nitrosamins XII erhalten.

Im Gegensatz zu den Befunden bei N-Nitroso-22,26-epimino-5 α -cholestanen ohne 20-Hydroxy-Gruppe führt somit die Photolyse der 20-hydroxylierten Vertreter VII und XII unter den angegebenen Bedingungen nicht zu $\Delta^{22(N)}$ -ungesättigten Azomethinen. Statt dessen wird unter Abspaltung des Piperidinringes das entsprechende 20-Keto-pregnan XVIII erhalten. Als Mechanismus nehmen wir einen Zerfall des photochemisch angeregten 1:1-Nitrosamin-Säure-Komplexes³⁰ gemäss Formelschema XVII an, das sich von dem für 20-nichthydroxylierte 22,26-Nitroso-epimino-5 α -cholestane diskutierten Reaktionsschema^{13, 15} dadurch unterscheidet, dass im vorliegenden Fall nicht das C-22-Proton, sondern unter Heterolyse der C(20)-C(22)-Bindung das Proton der 20-Hydroxy-Gruppe eliminiert wird.

Ähnliche Befunde wurden überraschenderweise auch bei UV-Bestrahlung des N-chlorierten Epiminocholestans VI in Trifluoressigsäure erhalten, wobei nach präparativer Schichtchromatographie an Kieselgel G neben Ausgangamin IV auch hier das 20-Keto-pregnan XVIII isoliert wurde. Während nach früheren Untersuchungen für das photochemische Verhalten von N-Chlor-epiminocholestan-Derivaten ohne 20-Hydroxy-Gruppe eine radikalische Photofragmentierung zu 20-Chlor-pregnanen¹⁶ oder intramolekulare Substitution¹⁴ charakteristisch ist, entsteht hier unter Bindungsspaltung zwischen C-20 und C-22 das entsprechende 20-Keto-pregnan neben dem auch in anderen Fällen beobachteten^{13, 16} enthalogenierten Ausgangsamin IV.

Auch die alkalische Behandlung der N-Chloramine VI und XI führt unter Abspaltung des Piperidinringes zu 20-Keto-pregnanen. So ergab die 2stdg. Reaktion mit Natriummethylat in absol. Methanol bei Raumtemperatur in beiden Fällen ein säulenchromatographisch trennbares Gemisch von 3 β .16 α -Dihydroxy-5 α -pregnan-20-on (XVIII) und 3 β -Hydroxy-5 α -pregn-16-en-20-on (XX). Die Reaktion kann im Sinne einer heterolytischen Fragmentierung³¹ gemäss Formelschema XIX gedeutet werden. Das Δ^{16} -20-Keton XX entsteht sekundär durch Wassereliminierung aus XVIII.

EXPERIMENTELLER TEIL

Schmelzpunkte (Mikroheitzisch nach Boëtius) korrigiert. Spezifische Drehungen in Chloroform. IR-Spektren: Zeiss-Zweistrahl-Spektrophotometer UR10 in Nujol, falls nicht anders angegeben. UV-Spektren

* Zum Cotton-Effekt weiterer Steroid-Nitrosamine vgl.²⁷

bzw. ORD-Messungen: Jasco-Spektropolarimeter ORD/UV5 bzw. Perkin-Elmer-Spektrophotometer 137 UV (die Konzentrationsangaben bei ORD-Messungen beziehen sich auf g/l). NMR-Spektren: AH 100-MHz-Varian-Spektrometer in Deuteriochloroform unter Verwendung von Tetramethylsilan als internem Standard. Massenspektren: Massenspektrograph des Forschungsinstitutes M. v. Ardenne, Dresden, bei den jeweils angegebenen Verdampfungstemperaturen (T_v). Für die Mikroelementaranalyse wurde i. Hochvak. über P_2O_5 /Paraffin bei 110° getrocknet. Säulenchromatographie: Kieselgel (VEB Laborchemie Apolda). Korngröße 0.1–0.5 mm. Dünnschichtchromatographie (DC): Kieselgel G (Merck), aufsteigende Entwicklung mit Chloroform/Methanol 95:5 v/v (Gemisch I) bzw. Chloroform/Chloroform (ammoniakgesättigt)/Methanol 60:40:3 v/v (Gemisch II). Laufstrecke ca. 15 cm; Detektion mit Jodreagens (0.5 g Jod + 1 g KJ/l l. Wasser); die Epiminocholestan-Derivate bilden gelbe bis braune, die Ketopregnane blaue bis bläuliche Flecken. UV-Bestrahlungen: Extern im Quarzkolben mit dem Quecksilberhochdruckbrenner Th U 500 der Fa. Thelma, Elektroapparate, Zella-Mehlis, Kolbenabstand 20 cm, Argonatmosphäre. Fönkühlung.

Katalytische Hydrierung von (20R)-3 β .16 α -Diacetoxy-20-(5-methylpyridyl-(2)]pregn-5-en-20-ol (I)

Verbindung I¹⁰ (1.5 g) wurde in 100 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 1.2 g PtO₂ bei Raumtemp. in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 4 Stdn. war die berechnete Wasserstoffmenge aufgenommen. Die filtrierte Lösung wurde i. Vak. eingengt, mit dem 5fachen Volumen Wasser versetzt und mit Ammoniak neutralisiert. Dreimalige Säulenchromatographie an der 100fachen Menge Kieselgel mit einem Elutionsgemisch Chloroform/Chloroform (ammoniakgesättigt)/Benzin 3:3:4 v/v ergab in 74-proz. Ausbeute II vom R_f 0.50 (Gemisch II) neben sehr geringen Mengen an VIII (R_f 0.45) sowie IX (4.4%; R_f 0.35) und III (5.3%; R_f 0.25).

(20R:22S:25S)-3 β .16 α -Diacetoxy-22.26-epimino-5 α -cholestan-20-ol (II)

Das durch vorstehende Chromatographie gewonnene II (R_f 0.50) ergab aus Methanol/Wasser farblose lange Nadeln vom Schmp. 196–199°. $[\alpha]_D^{20} - 55.8^\circ$ ($c = 0.484$), (C₂₉H₅₁NO₅ (517.4) Ber: C, 71.91; H, 9.93; N, 2.70; Gef: C, 71.56; H, 10.04; N, 2.73%); IR: 1260 und 1728 (O-Acetyl), 3355 (sek. NH) und 3492 cm⁻¹ (OH); Anionen-Massenspektrum (T_v 100°): m/e 576 ($M^- - 1 + CH_3COOH$), 516 ($M^- - 1$), 498 ($M^- - 1 - H_2O$), 474 ($M^- - CH_3CO$), 456 (474 - H₂O), 419 ($M^- - 98^*$), 401 ($M^- - 98 - H_2O$), 375 ($M^- - 142^\dagger$) und 359 ($M^- - 142 - H_2O$); NMR-Spektrum: δ 0.81 (s, 19-H₃), 0.89 (s, 18-H₃), 1.03 (d, $J = 7$ Hz, 27-H₃), 1.29 (s, 21-H₃), 2.00 und 2.04 (s, 3- und 16-Acetyl), 2.27 (m, 22-H?), 2.80 (m, 26-H?), 4.68 (Septett, $J_{aa} = 10$ Hz, $J_{ax} = 5$ Hz, 3 α -H) und 5.35 ppm (t, $J = 6$ Hz, 16 β -H).

(20R:22S:25S)-3 β -Acetoxy-22.26-epimino-5 α -cholestan-16 α .20-diol (III)

Das Monacetat III ergab aus Methanol/Wasser farblose Nadeln vom Schmp. 288–293° (Kristallumwandlung bei 265–270° zu Blättchen) vom R_f 0.25 (Gemisch II), $[\alpha]_D^{19} - 6.3^\circ$ ($c = 0.471$), (C₂₉H₄₉NO₄ (475.7) Ber: C, 73.22; H, 10.38; N, 2.94; Gef: C, 72.83; H, 11.10; N, 2.65%); IR: 1253 und 1740 (O-Acetyl), 3319 (sek. NH) und 3435 cm⁻¹ (OH); Anionen-Massenspektrum (T_v 100°): m/e 474 ($M^- - 1$), 456 ($M^- - 1 - H_2O$), 432 ($M^- - CH_3CO$), 377 ($M^- - 98^*$), 375, 359 (377-H₂O), 333 ($M^- - 142^\dagger$) und 331; NMR-Spektrum: δ 0.80 (s, 19-H₃), 0.87 (s, 18-H₃), 1.06 (d, $J = 7$ Hz, 27-H₃), 1.23 (s, 21-H₃), 1.99 (s, 3-Acetyl), 2.28 (m, 22-H?), 2.80 (m, 26-H?), 4.40 (m, 16 β -H) und 4.68 ppm (Septett, $J_{aa} = 10$ Hz, $J_{ax} = 5$ Hz, 3 α -H).

(20R:22S:25R)-3 β -Acetoxy-22.26-epimino-5 α -cholestan-16 α .20-diol (IX)

Das bei Säulenchromatographie des Hydrierprodukts erhaltene IX bildet aus Methanol/Wasser farblose Nadeln vom Schmp. 285–291°. $[\alpha]_D^{14} - 18.4^\circ$ ($c = 0.515$); R_f 0.35 (Gemisch II), (C₂₉H₄₉NO₄ (475.7) Ber: C, 73.22; H, 10.38; N, 2.94; Gef: C, 72.74; H, 10.35; N, 2.91%); IR: 1260 und 1732 (O-Acetyl), 3336 (sek. NH) und 3460 cm⁻¹ (OH); Anionen-Massenspektrum (T_v 70°): m/e 474 ($M^- - 1$), 456 ($M^- - 1 - H_2O$), 432 ($M^- - CH_3CO$), 377 ($M^- - 98^*$), 375, 359 (377-H₂O), 357, 333 ($M^- - 142^\dagger$), 331; Kationen-Massenspektrum (T_v 75°): m/e 476 ($M^+ + 1$), 474 ($M^+ - 1$), 377 ($M^+ - 98^*$), 358 (377-H₂O), 315 ($M^+ - 142^\dagger - H_2O$), 142 †) und 98 * ; NMR-Spektrum: δ 0.80 (s, 19-H₃), 0.82 (d, $J = 6$ Hz, 27-H₃), 0.87 (s, 18-Hz), 1.33 (s, 21-H₃), 1.99 (s, 3-Acetyl), 2.25 (m, 22-H?), 3.06 (m, 26-H?), 4.39 (m, 16 β -H) und 4.68 ppm (Septett, $J_{aa} = 10$ Hz, $J_{ax} = 5$ Hz, 3 α -H).

* Fragmentierung zwischen C-20 und C-22.

† Fragmentierung zwischen C-17 und C-20.

(20R : 22S : 25S)-22.26-Epimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (IV).

(a) *Durch Verseifung von Diacetat II.* Diacetat II (298.2 mg) wurde mit 25 ml 5-proz. methanol. Kalilauge 3 Stdn. unter Stickstoff auf dem Wasserbad erhitzt, i. Vak. auf das halbe Volumen eingengt und mit Wasser versetzt: 249.3 mg (99%) farblose Nadeln (Methanol/Wasser) vom Schmp. 265–269°, $[\alpha]_D^{19} + 5.7^\circ$ ($c = 0.437$); R_f 0.17 (Gemisch II); IR: 3322 (sek. NH) und 3495 cm^{-1} (OH); Anionen-Massenspektrum (T_r 100°): m/e 433 (M^-), 432 ($M^- - 1$), 414 ($M^- - 1 - H_2O$), 335 ($M^- - 98^*$), 333, 317 (335- H_2O) und 291 ($M^- - 142^\dagger$).

(b) *Durch Verseifung von Monoacetat III.* Monoacetat III (68 mg) wurde wie unter (a) angegeben verseift und lieferte aus Methanol/Wasser 59.2 mg (95%) IV vom Schmp. 265–269°, die laut Misch-Schmp. DC. spezifischer Drehung und IR-Spektrum mit dem nach (a) dargestellten Produkt identisch waren.

(20R : 22S : 25R)-22.26-Epimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (X)

Verbindung IX (50.2 mg) wurde wie für IV beschrieben mit 20 ml 5-proz. methanol. Kalilauge verseift. Umkristallisation aus Methanol/Wasser ergab 44.1 mg (96%) Nadeln vom Schmp. 296–300° (Zers.) und R_f 0.24 (Gemisch II), $[\alpha]_D^{22} - 13.1^\circ$ ($c = 0.459$); IR: 3334 (sek. NH) und 3492 cm^{-1} (OH); Anionen-Massenspektrum (T_r 115°): m/e 433 (M^-), 432 ($M^- - 1$), 414 ($M^- - 1 - H_2O$), 335 ($M^- - 98^*$), 317 (335- H_2O), 291 ($M^- - 142^\dagger$) und 273 (291- H_2O).

(20R : 22S : 25S)-3 β .16 α -Diacetoxy-22.26-acetylepimino-5 α -cholestan-20-ol (XIII)

(a) *Durch Acetylierung von Diacetat II.* Diacetat II (19.9 mg) wurde mit 1.5 ml absol. Pyridin und 1 ml Acetanhydrid 16 Stdn. bei Raumtemp. acetyliert und das Rohprodukt aus Aceton/Wasser umkristallisiert: 17.5 mg (81%) Nadeln vom Schmp. 199–202°, $[\alpha]_D^{19} - 15.5^\circ$ ($c = 0.483$) und R_f 0.51 (Gemisch I), $C_{33}H_{53}NO_6$ (559.8) Ber: C, 70.80; H, 9.54; N, 2.50; Gef: C, 70.25; H, 9.33; N, 2.67%; IR: 1248, 1268 und 1740 (O-Acetyl), 1623 (N-Acetyl) und 3405 cm^{-1} (OH).

(b) *Durch Acetylierung von Monoacetat III.* Monoacetat III (23.8 mg) wurde wie unter (a) angegeben acetyliert und das erhaltene Rohprodukt aus Methanol/Wasser umkristallisiert: Nadeln vom Schmp. 196–198° und $[\alpha]_D^{20} - 15.3^\circ$ ($c = 0.570$), in allen Eigenschaften identisch mit nach a) dargestelltem XIII.

(20R : 22S : 25R)-3 β .16 α -Diacetoxy-22.26-acetylepimino-5 α -cholestan-20-ol (XV)

Monoacetat IX (66 mg) wurde in 3 ml absol. Pyridin mit 2 ml Acetanhydrid 16 Stdn. bei Raumtemp. acetyliert. Kristallisation aus n-Hexan ergab 54.7 mg (70%) feine Nadeln vom Schmp. 104–108° und R_f 0.49 (Gemisch I), $[\alpha]_D^{19} - 20.2^\circ$ ($c = 0.420$), ($C_{33}H_{53}NO_6$ (559.8) Ber: C, 70.80; H, 9.54; N, 2.50; Gef: C, 70.35; H, 9.41; N, 2.35%; IR (Chloroform): 1250 und 1735 (O-Acetyl), 1635 (N-Acetyl), 3510, 3605 cm^{-1} (OH).

(20R : 22S : 25S)-22.26-Acetylepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XIV)

Triacetat XIII (110 mg) wurde mit 10 ml 1-proz. methanol. Kalilauge 30 Min. bei Raumtemp. verseift. Umkristallisation des Rohprodukts aus Aceton/Wasser ergab 84 mg (90%) Nadeln vom Schmp. 284–287° R_f 0.20 (Gemisch I) $[\alpha]_D^{16} + 10.3^\circ$ ($c = 0.486$), ($C_{29}H_{49}NO_4$ (475.7) Ber: N, 2.94; Gef: N, 2.90%; IR: 1618 (N-Acetyl) und 3300 cm^{-1} (OH).

(20R : 22S : 25R)-22.26-Acetylepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XVI)

Triacetylverbindung XV (31.9 mg) ergab nach 12stdg. Verseifung mit 5 ml 2.5proz. methanol. Kalilauge bei 20° 25 mg Rohprodukt vom R_f 0.20 (Gemisch I), das an 5 g Kieselgel chromatographiert wurde (Fraktionen zu 5 ml). Die mit Chloroform/Benzin 4:1 eluierten Fraktionen 25–40 lieferten nach Kristallisation aus Methanol/Wasser 10 mg (37%) Blättchen vom Schmp. 206–210 (Zers.), $[\alpha]_D^{22} - 18.2^\circ$ ($c = 0.440$); IR (Chloroform): 1628 (N-Acetyl), 3618 cm^{-1} (OH); Kationen-Massenspektrum (T_r 90°): m/e 457 ($M^+ - H_2O$), 439 (457- H_2O), 396 (457- CH_3CO), 273 ($M^+ - 184^\dagger - H_2O$), 180 und 140*).

(20R : 22S : 25S)-3 β .16 α -Diacetoxy-22.26-chlorepimino-5 α -cholestan-20-ol (V)

Zu II (18.9 mg) in 5 ml gereinigtem Methylenchlorid wurde bei -5 bis -10° eine Lösung von 6.5 mg N-Chlor-succinimid in 2 ml Methylenchlorid unter kräftigem Rühren innerhalb 30 Min. zugetropft, weitere 30 Min. bei Raumtemp. gerührt, dreimal mit Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und das Methylenchlorid i. Vak. bei 20° abgedunstet: 19.0 mg (95%) weiskristallines, im DC reines V (R_f 0.73, Gemisch I)

* Fragmentierung zwischen C-20 und C-22.

† Fragmentierung zwischen C-17 und C-20.

vom Schmp. 128–135° (Zers.)*. $[\alpha]_D^{20} - 20.8^\circ$ ($c = 0.360$); IR: 1255 und 1735 (O-Acetyl), 3555 cm^{-1} (OH); UV (Äthanol): λ_{max} 295 nm ($\log \epsilon$ 2.56); ORD (Dioxan, $c = 4.98$): $[M]_{304} + 55^\circ$, $[M]_{235} - 1348^\circ$ ($a = +14$).

(20R : 22S : 25S)-22.26-Chlorepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (VI)

Amin IV (118.9 mg) wurde wie für Verbindung V beschrieben in 50 ml Methylchlorid mit 59.2 mg N-Chlor-succinimid in 8 ml Methylchlorid umgesetzt und aufgearbeitet: 132 mg (94%) weiskristallines Chloramin VI (R_f 0.57, Gemisch I) vom Schmp. 174–183° (Zers.)*, $[\alpha]_D^{19} + 22.4^\circ$ ($c = 0.535$); UV (Äthanol): λ_{max} 305 nm ($\log \epsilon$ 2.51); ORD (Dimethylformamid, $c = 5.35$): $[M]_{313} + 810^\circ$, $[M]_{270} - 2321^\circ$ ($a = +31$).

(20R : 22S : 25R)-22.26-Chlorepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XI)

Amin X (21.4 mg) wurde in 12 ml Methylchlorid gelöst nach vorstehend beschriebener Methode mit 26.8 mg N-Chlor-succinimid in 3 ml Methylchlorid umgesetzt und aufgearbeitet: 21.2 mg (84%) farblose Kristalle (R_f 0.57 (Gemisch I) vom Schmp. 102–104° (Zers.)*, $[\alpha]_D^{18} + 83.7^\circ$ ($c = 0.496$); UV (Äthanol): λ_{max} 300 nm ($\log \epsilon$ 2.52); ORD (Dimethylformamid, $c = 4.63$): $[M]_{305} + 720^\circ$, $[M]_{258} - 10^\circ$ ($a = +7$).

(20R : 22S : 25S)-22.26-Nitrosoepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (VII)

Triol IV (30.5 mg) wurde in 5 ml Eisessig gelöst und tropfenweise unter Rühren bei 0° mit gesättigter Natriumnitritlösung versetzt, bis sich kein Niederschlag mehr bildete. Nach Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen ergab Kristallisation aus Aceton/Wasser 14.6 mg (45%) feine Nadeln (R_f 0.30 (Gemisch I) vom Schmp. 283–284° (Zers.), $[\alpha]_D^{19} - 19.0^\circ$ ($c = 0.473$); $(C_{27}H_{46}N_2O_4)$ (462.7) Ber.: C, 70.08; H, 10.02; N, 6.05; Gef.: C, 69.33; H, 10.04; N, 6.35%; IR: 3400 cm^{-1} (OH); UV (Äthanol): λ_{max} (log ϵ) 350 (1.89), 242 (3.68) nm; ORD (Dioxan, $c = 1.78$): $[M]_{376} + 1170^\circ$, $[M]_{331} - 2340^\circ$, $[M]_{312} - 2470^\circ$, $[M]_{260} - 6480^\circ$ ($a_1 = +35$, $a_2 = +40$).

(20R : 22S : 25R)-22.26-Nitrosoepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XII)

Triol X (26.8 mg) wurde wie für IV beschrieben mit NaNO_2 in Eisessig umgesetzt und aufgearbeitet. Nach zweimaliger Kristallisation aus Methanol/Wasser erhielt man 12.7 mg (45%) feine Nadeln (R_f 0.37 (Gemisch I)) vom Schmp. 243–245° (Zers.), $[\alpha]_D^{18} - 25.6^\circ$ ($c = 0.411$), $(C_{27}H_{46}N_2O_4)$ (462.7) Ber.: C, 70.08; H, 10.02; N, 6.05; Gef.: C, 70.89; H, 10.55; N, 6.12%; IR: 3400 cm^{-1} (OH); UV (Äthanol): λ_{max} (log ϵ) 356 (2.14), 240 (3.74) nm; ORD (Dioxan, $c = 1.37$): $[M]_{390} - 1480^\circ$, $[M]_{335} + 1690^\circ$, $[M]_{304} + 1420^\circ$, $[M]_{259} + 3110^\circ$ ($a_1 = -32$, $a_2 = -17$).

Photolyse von (20R : 22S : 25S)-22.26-Nitrosoepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (VII)

Nitrosoverbindung VII (24.6 mg) wurde in 10 ml 0.07 n absol. äthanol. HCl gelöst und im Quarzkolben mit UV-Licht unter Argon bestrahlt ($T = 20\text{--}30^\circ$). Die dünnschichtchromatographische Verfolgung (Gemisch I) des Reaktionsverlaufs zeigte nach 30 Min. Bestrahlung zwei neue Flecken vom R_f 0.24 (blauviolett) und 0.02 (braun, Ausgangsmaterial R_f 0.30). Die Lösung wurde mit 10 ml Äthanol versetzt, durch Schütteln mit festem NaHCO_3 neutralisiert und nach Filtration i. Vak. eingengt. Der hinterbliebene Rückstand gab nach Umkristallisation aus Methanol/Wasser 19.4 mg (95%) farblose Nadeln vom Schmp. 260–261° $[\alpha]_D^{21} + 55.9^\circ$ ($c = 0.433$); IR: 1705 (Keton) und 3300 cm^{-1} (OH), die sich nach Misch-Schmp.; Misch-DC. IR-Spektrum und spezifischer Drehung mit authent. (XVIII) als identisch erwiesen (Lit.³²; Schmp. 260–262°, $[\alpha]_D + 64^\circ$). Als Nebenprodukt verblieb in den Mutterlaugen Ausgangsamin IV.

Photolyse von (20R : 22S : 25R)-22.26-Nitrosoepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XII)

Nitrosoverbindung XII (3.1 mg) wurde nach vorstehend beschriebener Methode in 2.5 ml 0.07 n absol. äthanol. HCl bestrahlt und aufgearbeitet. Das DC zeigte ein mit der Photolyse von VII korrespondierendes Ergebnis.

* Die N-Chlor-Verbindungen wurden wegen ihrer Temperatur- und Lichtempfindlichkeit nicht weiter gereinigt. Sie besitzen unscharfe, von der Erhitzungsgeschwindigkeit abhängige Zersetzungspunkte.²⁸

Photolyse von (20R:22S:25S)-22.26-Chlorepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (VI) in Trifluoressigsäure

N-Chlor-Verbindung VI (20·9 mg) wurde in 3 ml frisch destillierter Trifluoressigsäure unter Argon mit UV-Licht bestrahlt. Nach 30 Min. war mit KJ/Stärke kein aktives Chlor mehr nachweisbar. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wurde der ölige Rückstand mit 5 ml 2-proz. methanol. Kalilauge 1 Stde. unter Argon auf 60° erwärmt und nachfolgend mit Wasser versetzt. Das erhaltene Produkt zeigte im DC zwei neue Flecke vom R_f 0·24 und 0·02 (Gemisch I). Durch präparative Schichtchromatographie (Kieselgel G. Platten zu 20 × 20 cm. Entwicklung und Elution mit Chloroform) konnten nach Umkristallisation aus Methanol/Wasser 8·0 mg (39%) Nadeln (R_f 0·02) vom Schmp. 255·257° und $[\alpha]_D^{20} + 4·9°$ ($c = 0·317$) erhalten werden, die sich in allen Eigenschaften mit dem Triol IV als identisch erwiesen. Als zweite Substanz erhielt man 4·4 mg (23%) Nadeln (R_f 0·24), vom Schmp. 260–262°. $[\alpha]_D^{20} + 58·2°$ ($c = 0·211$), in allen Eigenschaften identisch mit authent. XVIII.

Heterolytische Fragmentierung von (20R:22S:25S)-22.26-Chlorepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (VI) mit Natriummethylat

N-Chloro-Verbindung VI (132·0 mg) wurde mit einer Lösung von 330 mg Natrium in 20 ml absol. Methanol 2 Stdn. bei Raumtemp. geschüttelt, mit Wasser versetzt, der Niederschlag abgesaugt und getrocknet. Das DC (Gemisch I) zeigte zwei Produkte vom R_f 0·50 und 0·24 (beide blau) an. Chromatographie an 10 g Kieselgel lieferte bei Elution mit Chloroform (Fraktionen zu 5 ml) nach Umkristallisation der Fraktionen 9–20 aus Methanol/Wasser 14·3 mg (15%) Nadeln (R_f 0·50) vom Schmp. 193–198°. $[\alpha]_D^{19} + 39°$ ($c = 0·432$); IR: 1665 (konj. Keton) und 3450 cm^{-1} (OH), die mit authent. XX nach Misch.-Schmp., Misch-DC, IR-Spektrum und spezifischer Drehung identisch waren. Aus den Fraktionen 31–50 wurden nach Umkristallisation aus Methanol/Wasser 24·5 mg (27%) Nadeln (R_f 0·24) vom Schmp. 262–265°. $[\alpha]_D^{19} + 60·4°$ ($c = 0·315$, Chloroform/Methanol 1:1), erhalten, die in allen Eigenschaften mit XVIII identisch waren.

Heterolytische Fragmentierung von (20R:22S:25R)-22.26-Chlorepimino-5 α -cholestan-3 β .16 α .20-triol (XI) mit Natriummethylat

N-Chlor-Verbindung XI (2 mg) wurde mit einer Lösung von 8 mg Natrium in 1 ml absol. Methanol 2 Stdn. wie für VI angegeben umgesetzt und aufgearbeitet. Das DC zeigte ein mit der Umsetzung von VI korrespondierendes Ergebnis.

Danksagung—Herrn Prof. Dr. M. Hesse, Zürich, danken wir für die NMR-Aufnahmen, Herrn Dr. habil. R. Tümmler, Dresden, für die Massenspektren und Frau C. Wolff für experimentelle Mitarbeit. Die Mikroelementaranalysen wurden vom Mikroanalytischen Laboratorium des Zentralinstituts für Mikrobiologie und experimentelle Therapie Jena der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin ausgeführt.

LITERATUR

- 1 Photochemische Reaktionen, XV. Mitteil. [XIV. Mitteil.: G. Adam, *Z. Chem.* **10**, 140 (1970) und *Solanum-Alkaloide*, XCII. Mitteil. [XCI. Mitteil.: F.-J. Sych, H. Ripperger und K. Schreiber, *Tetrahedron Letters* 5251 (1970)]
- 2 vgl. K. Schreiber, in: R. H. F. Manske, *The Alkaloids—Chemistry and Physiology* Bd. X, S.1, Academic Press, New York (1968).
- 3 E. Bianchi, F. Diaz und J. A. Garbarino, *Gazz. Chim. Ital.* **90**, 894 (1960).
- 4 E. Bianchi, C. Djerassi, H. Budzikiewicz und Y. Sato, *J. Org. Chem.* **30**, 754 (1965).
- 5 Y. Sato, Y. Sato, H. Kaneko, E. Bianchi und H. Kataoka, *Ibid.* **34**, 1577 (1969)
- 6 A. Usubillaga, C. Seelkopf, I. L. Karle, J. W. Daly und B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 700 (1970).
- 7 G. Adam, K. Schreiber, J. Tomko und A. Vassová, *Tetrahedron* **23**, 167 (1967)
- 8 J. Tomko, A. Vassová, G. Adam und K. Schreiber, *Ibid.* **24**, 4865 (1968)
- 9 J. Tomko, A. Vassová, G. Adam und K. Schreiber, *Ibid.* **24**, 6839 (1968)
- 10 K. Schreiber und G. Adam, *Liebigs Ann.* **666**, 176 (1963)
- 11 K. Schreiber und G. Adam, *Ibid.* **666**, 155 (1963)
- 12 K. Schreiber und G. Adam, *Tetrahedron* **20**, 1707 (1964)
- 13 G. Adam, *Habilitationsschrift*, Univ. Halle (1967)
- 14 G. Adam und K. Schreiber, *Tetrahedron* **20**, 1719 (1964)

- ¹⁵ G. Adam und K. Schreiber. *Ibid.* **22**, 3591 (1966)
- ¹⁶ G. Adam und K. Schreiber. *Ibid.* **22**, 3581 (1966); *Chem. Ber.* **102**, 878 (1969)
- ¹⁷ K. Schreiber und G. Adam. *Mh. Chem.* **92**, 1093 (1961)
- ¹⁸ G. Adam, K. Schreiber, R. Tümmler und K. Steinfelder. *J. prakt. Chem.* im Druck
- ¹⁹ Vgl. L. F. Fieser und M. Fieser. *Steroide* S.195. Verlag Chemie, Weinheim (1961); Ch. W. Shoppee. *Chemistry of the Steroids*. (second Edition). Butterworths, London (1964)
- ²⁰ H. Paulsen und K. Todt. *Angew. Chem.* **78**, 943 (1966); *Ibid.* Internat. Edit. **5**, 899 (1966); *Chem. Ber.* **100**, 3385 (1967)
- ²¹ Vgl. J. W. Scott, L. J. Durham, H. A. P. Dejongh, J. Burckhardt und W. S. Johnson. *Tetrahedron Letters* 2381 (1967)
- ²² H. Ripperger, K. Schreiber und G. Snatzke. *Tetrahedron* **21**, 727 (1965)
- ²³ E. Hönne, I. Seidel, G. Adam, D. Voigt und K. Schreiber. *J. prakt. Chem.* im Druck
- ²⁴ H. Ripperger, und K. Schreiber. *Liebigs Ann.* **723**, 159 (1969)
- ²⁵ W. E. Rosen, J. B. Ziegler, A. C. Shabica und J. N. Shoolery. *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 1687 (1959); J. P. Kutney. *Steroids* **2**, 225 (1963); R. K. Callow, V. H. T. James, O. Kennard, J. E. Page, P. N. Paton und L. Riva di Sanseverino. *J. Chem. Soc.* 288 (1966); P. M. Boll und W. v. Philipsborn. *Acta Chem. Scand.* **19**, 1365 (1965); L. Toldy und L. Radicz. *Kémiai Közlemények* **26**, 247 (1966)
- ²⁶ J. Tomko, Z. Votický, A. Vassová, G. Adam und K. Schreiber. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **33**, 4054 (1968)
- ²⁷ G. Snatzke, H. Ripperger, C. Horstmann und K. Schreiber. *Tetrahedron* **22**, 3103 (1966)
- ²⁸ G. Adam. *Dissertation* Univ. Jena (1962)
- ²⁹ R. Neher, P. de Saulles, E. Vischer, P. Wieland und A. Wettstein. *Helv. Chim. Acta* **41**, 1667 (1958)
- ³⁰ Vgl. N. S. Layne, H. H. Jaffe und H. Zimmer. *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 435 (1963)
- ³¹ Vgl. C. A. Grob und D. W. Schiess. *Angew. Chem.* **79**, 1 (1967); *Ibid.* Internat. Edit. **6**, 1 (1967); C. A. Grob. *Ibid.* **81**, 543 (1969) bzw. **8**, 535 (1969)
- ³² Vgl. J. Jaques, H. Kagan und G. Ourisson. *Optical Rotatory Power. Ia Steroids*. Pergamon Press, Oxford (1965).