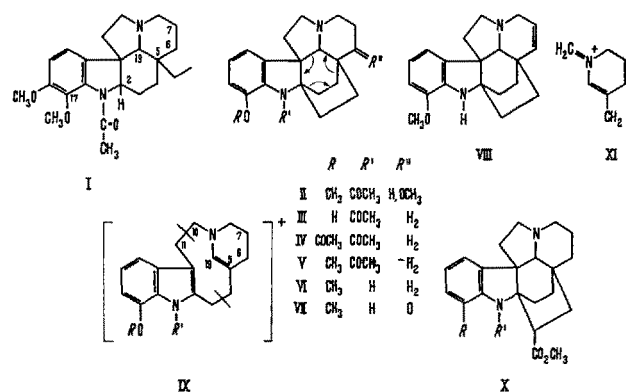


175°/7 × 10⁻⁶ mm), which was cleaved by heating for 1 h with 50% hydrochloric acid to 0-methyldeacetylaspidoifiline (VI) (m.p. 129–131°, $[\alpha]_D^{25}$ -6.4°, $\lambda_{\text{max}}^{EIOH}$ 244 and 287 m μ , log ϵ 3.79 and 3.34, unchanged in alkaline solution).

The empirical formula of aspidofiline (m.p. 190–191°, $[\alpha]_D^{25}$ -17.4°, $\lambda_{\text{max}}^{EIOH}$ -KOH 231 and 308 m μ , log ϵ 3.76 and 4.31) was shown to be C₂₁H₂₆N₂O₂ (338)—rather than the earlier³ assumed C₂₀H₂₂N₂O₂—by mass spectrometry of the parent alkaloid (molecular ion at m/e 338) and its three transformation products, IV (mol. ion 380), V (mol. ion 352) and VI (mol. ion 310). Most importantly, the mass spectra of aspidofiline (III) and its derivatives (IV–VI) all showed a strong M-28 peak (IX), analogous to the expulsion (see arrows in II) of ethylene in aspidopermine-like alkaloids¹⁰, and a base peak at m/e 109. The latter was encountered first in the mass spectra of refractine (X, R = OCH₃; R' = CHO)¹¹, aspidofractine (X, R = H; R' = CHO)¹¹ and kopsinine (X, R = R' = H)¹² and attributed to species XI.



In view of these mass spectrometric and n.m.r. properties and the co-occurrence of aspidofiline and pyrifoline (II)⁵ in the same plant, structure III appeared to be the most plausible alternative for aspidofiline, formation of the m/e 109 ion being rationalized readily by rupture (wavy lines in IX) of the allylically activated centers in the M-28 species (IX), this path being substantiated by the appearance of a metastable peak at m/e 41.5. Chemical confirmation of this supposition could be provided by the following direct interrelation with pyrifoline (II).

The conversion of pyrifoline (II) into N-deacetyl-6-de-methyl-6-dehydropyrifoline (VII) has already been de-

scribed earlier⁵. Clemmensen reduction of VII and separation of the complex reaction mixture by preparative thinlayer chromatography on silica gel (developed with a mixture of 10% ethanol (95%)–45% benzene–45% ethylacetate) yielded 0-methyl-deacetyl-6-dehydroaspidoifiline (VIII) (mol. ion at m/e 308, no m/e 109 peak (XI), M-28 (IX, R = CH₃; R' = H with 6–7 double bond) and m/e 107 (XI with additional double bond) peaks of equal intensity, base peak at m/e 188)¹³. Catalytic hydrogenation of VIII with palladized charcoal catalyst in ethyl acetate solution provided 0-methyldeacetylaspidoifiline (VI) (m.p. 128–129°, $[\alpha]_D^{25}$ -7.7°), which was shown to be identical with the naturally derived material by infrared, ultraviolet, n.m.r. and mass spectrometry as well as by thinlayer chromatographic mobility.

Aspidofiline thus represents the first alkaloid of the hexacyclic class encompassed by pyrifoline⁵, refractine¹¹, kopsinine¹² and their congeners, where the hydroaromatic portion of the molecule bears no functional groups¹⁴.

Zusammenfassung: Auf Grund von Protonresonanz und massenspektrometrischen Messungen sowie durch direkte Verbindung mit Pyrifolin (II) wird für das *Aspidosperma*-Alkaloid Aspidofilin die Struktur III vorgeschlagen.

C. DJERASSI, R. J. OWELLEN, J. M. FERREIRA¹⁵, and L. D. ANTONACCIO¹⁵.

Department of Chemistry, Stanford University, Stanford (California, U.S.A.) and Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de Janeiro (Brazil), June 20, 1962.

¹⁰ K. BIEMANN, M. FRIEDMANN-SPITELLER, and G. SPITELLER, Tetrahedron Letters 485 (1961).

¹¹ C. DJERASSI, T. GEORGE, N. FINCH, H. F. LODISH, H. BUDZIKIEWICZ, and B. GILBERT, J. Amer. chem. Soc. 84, 1499 (1962).

¹² W. G. KUMP, D. J. LE COUNT, A. R. BATTERSBY, and H. SCHMID, Helv. chim. Acta 45, 854 (1962).

¹³ This m/e 188 peak, which is also encountered in less intense form in the mass spectra of V and VI—and at m/e 174 in aspidofiline (III)—is almost certainly due to rupture of the molecule at positions 5, 10, and 19.

¹⁴ Acknowledgment. We are indebted to Dr. H. BUDZIKIEWICZ and Dr. J. M. WILSON for the mass spectra and to Dr. LOIS J. DURHAM for the n.m.r. determinations. Financial support was rendered in part by the National Heart Institute of the National Institutes of Health (grant No. 2G-682) and partly by the Rockefeller Foundation.

¹⁵ Recipient of a fellowship from the International Cooperation Administration under a program administered by the U.S. National Academy of Sciences.

Über eine neue Synthese von 18-Hydroxy- und 18-Oxo-progesteron^{1,2}

Im Verlaufe von Untersuchungen über biogenetische Zusammenhänge in der Reihe der Corticosteroide³ wurden in den letzten Jahren in unserem Laboratorium mehrere potentielle Vorläufer des Aldosterons synthetisiert⁴. Neben den von uns bereits beschriebenen, in Stellung 18 oxigenierten Derivaten des Cortexons⁵, 11 β -Hydroxyprogesterons und Corticosterons, kommt den entspre-

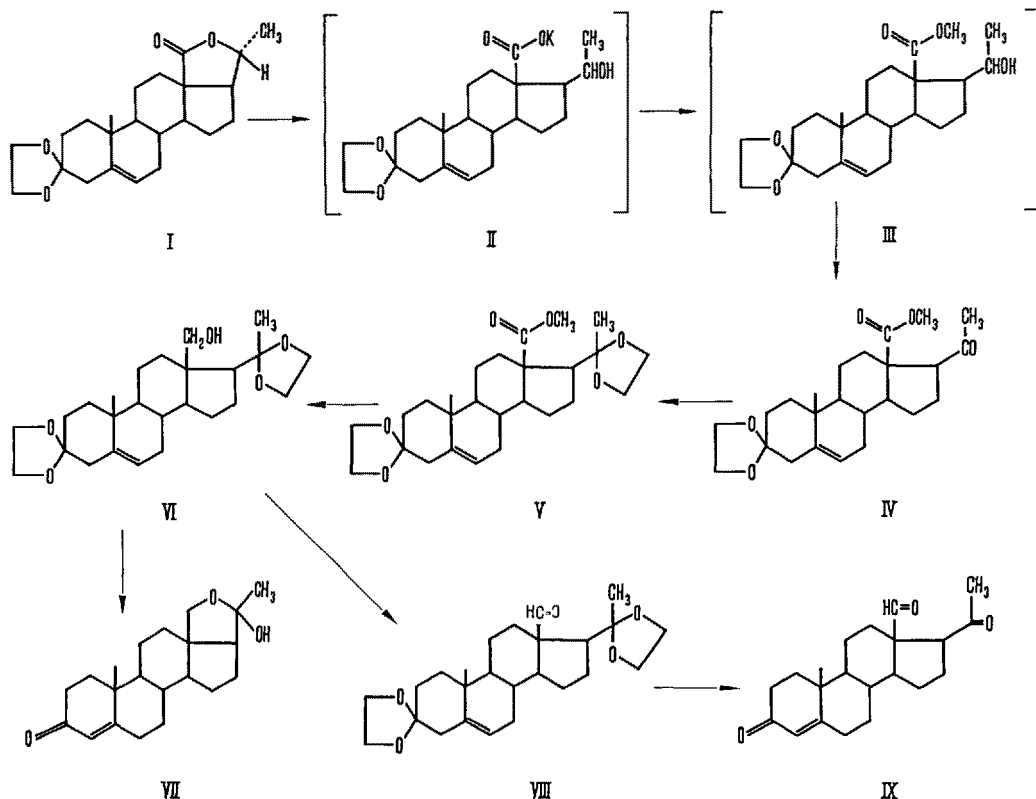
¹ Über Steroide, 188. Mitt.

² 187. Mitt. s. CH. MEYSTRE, K. HEUSLER, J. KALVODA, P. WIELAND, G. ANNER und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 45, 1317 (1962).

³ Zusammenfassende Darstellung s. A. WETTSTEIN, Exper. 17, 329 (1961); vgl. ferner das Übersichtsreferat über «Die Chemie des Aldosterons» vom gleichen Autor, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, 68, (1962), im Druck.

⁴ J. SCHMIDLIN und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 42, 2636 (1959); 44, 1596 (1961); 45, 331 (1962).

⁵ F. W. KAHNT, R. NEHER und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1237 (1955).



chenden einfachen Substitutionsprodukten des Progesterons, d.h. dem 18-Hydroxy-⁶ und dem 18-Oxo-progesteron⁷, als Zwischenprodukten der Aldosteron-Biosynthese besondere Bedeutung zu. Zu Beginn unserer biochemischen Versuche waren die beiden letztgenannten Verbindungen nur auf umständlichem Wege durch Abbau von Holarrhena-Alkaloiden⁶⁻⁸, z.B. von Conessin und Holarrhimin, zugänglich. Es ist uns jedoch inzwischen gelungen, sie auf einfache und ergiebige Weise aus 18-unsubstituierten Ausgangsstoffen⁹ herzustellen, worüber im folgenden kurz berichtet sei.

Das in hoher Ausbeute aus Progesteron erhaltliche 18,20-Lacton der 3,3-Äthylendioxy-20 β -hydroxy- Δ^5 -pregnen-18-säure (I)² lieferte mit 30prozentiger wässrig-alkoholischer Kaliumhydroxidlösung beim Erwärmen auf 130°, unter Aufspaltung des Lactonringes, das Kaliumsalz der 3,3-Äthylendioxy-20 β -hydroxy- Δ^5 -pregnen-18-säure (II)¹⁰. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch Umsetzung mit Methyljodid und überschüssiger Pottasche in siedendem tert. Butanol in den Hydroxy-methylester III¹¹ übergeführt. Die Dehydrierung von III mit Chrom(VI)-oxid in

Pyridin-Wasser¹² bei 60°C während 16 h führte nach chromatographischer Reinigung des Reaktionsproduktes in 55-60prozentiger Ausbeute (bezogen auf I) zum Methylester der 3,3-Äthylendioxy-20-oxo- Δ^5 -pregnen-18-säure (IV)¹³. Nach anschließender Ketalisierung des Ketoesters IV durch Erwärmen seiner Benzollösung mit Äthylen-glykol und katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure konnte in 75-80prozentiger Ausbeute der reine Methylester der 3,3;20,20-Bisäthylendioxy- Δ^5 -pregnen-18-säure (V) gewonnen werden, dessen quantitativ verlaufende Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran das 3,3;20,20-Bisäthylendioxy-18-hydroxy- Δ^5 -pregnen (VI)¹⁴ lieferte. Diese Verbindung, welche in

⁶ F. BUZZETTI, W. WICKI, J. KALVODA und O. JEGGER, *Helv. chim. Acta* **42**, 388 (1959).

⁷ R. PAPPO, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1010 (1959).

⁸ L. LÄBLER und F. ŠORM, *Chem. & Ind.* **1959**, 598; *Coll. Czech. chem. Comm.* **25**, 265 (1960); vgl. auch J. HORA und V. ČERNÝ, *Coll. Czech. chem. Comm.* **26**, 2217 (1961).

⁹ Über eine erste gangbare Variante haben wir unlängst berichtet, s. Fussnote 2).

¹⁰ Die alkalische Reaktionslösung wurde mit festem Kohlendioxid unter Kühlung neutralisiert und nach Abdampfen des Alkohols lyophilisiert. Das erhaltene Gemisch, bestehend aus dem Kaliumsalz II, Kaliumcarbonat und Kaliumhydrogencarbonat, wurde direkt weiter verarbeitet.

¹¹ Die Verbindung wurde ohne weitere Reinigung der Oxydation unterworfen.

¹² Auf 1,0 g Substanz, gelöst in 10 ml Wasser und 15 ml Pyridin, verwendeten wir 3,0 g Chrom(VI)-oxid.

¹³ Die physikalischen Daten der Verbindungen IV, V, VI und VIII sind in der Tabelle zusammengestellt. Alle Verbindungen lieferten stimmende C, H-Analysen. Die IR-Spektren sind mit den angegebenen Konstitutionsformeln im Einklang.

¹⁴ In Verbindung VI wird die Ketalgruppe am C-Atom 20 bereits bei der Chromatographie an Silicagel allmählich hydrolysiert.

Nr.	Name	Smp.	$[\alpha]_D^{25}$ (CHCl ₃)
IV	3,3-Äthylendioxy-20-oxo- Δ^5 -pregnen-18-säure-methylester	173-174°	+ 9,4°
V	3,3;20,20-Bisäthylendioxy- Δ^5 -pregnen-18-säure-methylester	118-119°	- 18,4°
VI	3,3;20,20-Bisäthylendioxy-18-hydroxy- Δ^5 -pregnen	200° (Zers.)	- 6,5°
VIII	3,3;20,20-Bisäthylendioxy-18-oxo- Δ^5 -pregnen	174-176°	+ 11°

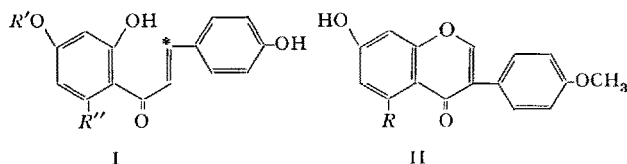
18-Stellung bereits eine freie Hydroxygruppe aufweist, liess sich nun unter milden Bedingungen, durch Hydrolyse mit verdünnter Essigsäure während 12 min bei 95°, in einer Ausbeute von ca. 85% in 18-Hydroxy-progesteron¹⁵, das in der entsprechenden 20(18)-Cyclohemiketalform VII vorliegt, überführen.

¹⁵ Die erhaltene Verbindung wurde anhand ihres Smp., Mischsmp. mit authentischem Präparat⁴, IR-Spektrums und ihres papierchromatographischen Verhaltens [Systeme: Formamid/Cyclohexan-Benzol (1:1); Formamid/Benzol und Bush A (380°)] identifiziert.

¹⁶ Das Hydrolyseprodukt liess sich durch präparative Papierchromatographie [Systeme: Formamid/Cyclohexan-Benzol (1:1), Rf = 0,70; Bush B₃ (38°) nach Voräquilibration, Rf = 0,62] und anschliessende Kristallisation aus wenig Äther rein erhalten. Die Ausbeute an Kristallen vom Smp. 128–130° betrug 30–35% bez. auf VI. Die Verbindung zeigte das erwartete IR-Spektrum⁷ und lieferte richtige Analysenwerte.

Einbau des 2',4,4',6'-Tetrahydroxy-chalkon-2'-glucosid-[β-¹⁴C] in Isoflavone¹

Wie wir in einer früheren Untersuchung zeigen konnten, wird in der Kichererbse (*Cicer arietinum* L.²) das 4,4',6'-Trihydroxy-chalkon-4'-glucosid-[β-¹⁴C] (I, R' = Glucose, R'' = H) in spezifischer Weise nur in das Isoflavon Formononetin (II, R = H), nicht aber in das Biochanin-A (II, R = OH) eingebaut³.



Wir haben nun den Gegenversuch mit dem 2',4,4',6'-Tetrahydroxy-chalkon-2'-glucosid-[β-¹⁴C]⁴ (I, R' = H, R'' = O-Glucose) durchgeführt. Dieses Chalkonglucosid wurde Cicer-Trieben in wässriger Lösung zugeführt, nach 40 h wurden die Isoflavone in der früher beschriebenen Weise isoliert und nach Verdünnung mit inaktivem Material und Reinigung zu Ameisensäure und dem entsprechenden Keton abgebaut³. Die Ergebnisse der Radioaktivitätsmessungen sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, wird das Tetrahydroxy-chalkon in das Biochanin-A eingebaut, wobei sich erwartungsgemäss alle Aktivität im C-2 (Formiat) des Isoflavons befindet³. Die schwache Aktivität im Formononetin muss zumindest zum Teil auf einer radioaktiven Verunreinigung beruhen, da im Formiat nur 35% der Aktivität gefunden wurden. Die Frage bleibt daher zunächst offen, ob eine reduktive Eliminierung der 2'-Hydroxylgruppe am Chalkon (bzw. 5-Hydroxylgruppe am Isoflavon) möglich ist, oder ob diese Reduktion bereits in der offenkettigen Poly-β-ketosäure erfolgt, wie es BIRCH für wahrscheinlicher hält⁶.

Eine interessante Beobachtung machten wir bei der Aufstellung einer Aktivitätsbilanz. Dabei wurde festgestellt, dass ein erheblicher Teil der Aktivität nach der Extraktion der Pflanzen mit Alkohol im Unlöslichen verbleibt. Auch mit Pyridin/Wasser (1:1) geht von dieser

Das Hydroxy-diketal VI lieferte ferner nach Oxydation der 18-Hydroxygruppe mit Chrom(VI)-oxid in Pyridin-Wasser bei 60°C¹² während 3½ h die 18-Oxoverbindung VIII, die ihrerseits durch kurzes Erhitzen mit 66prozentiger Essigsäure zu 18-Oxo-progesteron¹⁶ (IX) hydrolysiert werden konnte.

Summary. 18-Hydroxyprogesterone (VII) and the corresponding 18-aldehyde (IX), hitherto only accessible with difficulty from natural 18-substituted steroids, have been synthesized starting from progesterone.

J. KALVODA, J. SCHMIDLIN,
G. ANNER und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel (Schweiz), 14. Juli 1962.

Aktivität nur wenig in Lösung. Um festzustellen, ob es sich bei dieser Verbindung um ein Polymeres handelt, wurde der Rückstand nacheinander in folgender Weise behandelt: (a) 2*n* HCl, 1 h bei 80°; (b) konz. HCl/Methanol (1:1), 8 min zum Sieden und (c) konz. HCl/*n*-Butanol (1:5) 40 min auf 120° im Bombenrohr. Unter letzterer Bedingung wurden von WEINGES die polymeren Pro-anthocyanidine hydrolysiert⁷. Nach dieser Behandlung blieben noch etwa 18% der Aktivität im Rückstand. Ein ähnliches Ergebnis wurde mit dem 7,4'-Dihydroxyflavon-7-glucosid-[2-¹⁴C] erhalten (Tabelle II). Behandelte man den Rückstand nach der Säurehydrolyse mit Cuoxam (Cu-tetraminhydroxyd), um noch vorhandene Cellulose zu lösen, so erhöhte sich die spezifische Aktivität. Mikroskopisch bestand

Tab. I. Radioaktivitätsverteilung auf die Isoflavone und deren Abbauprodukte. Aktivitätsbestimmung im Proportionalzählrohr⁵. Zählgerät mit Antikoinzidenzanlage (UNI/ZS Prof. BERTHOLD, Wildbad)

Verbindung	ipm/mMol (mit inaktivem Material verdünnt)	ipm/mMol (unverdünnt)
Chalkon	—	~2,6 × 10 ⁹
Biochanin-A	8300	2,5 × 10 ⁶
Formiat aus Biochanin-A	8150	2,44 × 10 ⁶
Formononetin	770	4,2 × 10 ⁵
Formiat auf Formononetin	270	1,5 × 10 ⁵

¹ VI. Mitt. Zur Biogenese der Isoflavone. V. Mitt. H. GRISEBACH und G. BRANDNER, *Biochim. biophys. Acta* 60, 51 (1962).

² Monsieur CERVONI, Directeur du Service Economique de la Chambre d'Agriculture du Vaucluse, Avignon, danken wir für die Samen der Kichererbse.

³ H. GRISEBACH und G. BRANDNER, *Z. Naturforschg.* 16b, 2 (1961).

⁴ H. GRISEBACH und L. PATSCHKE, *Z. Naturforschg.* 16b, 645 (1961).

⁵ H. SIMON, H. DANIEL und J. F. KLEBE, *Angew. Chem.* 71, 303 (1959).

⁶ A. J. BIRCH, *Fortschr. Chem. org. Naturst.* 14, 198 (Springer Verlag, Wien 1957).

⁷ K. WEINGES, *Chem. Ber.* 94, 3032 (1961).