

gearbeitet. Das Endprodukt (780 mg) zeigt einen Smp. von 95–96° und hat eine spez. Aktivität von 148 mC/mM.

4.3. *Thiethylperazin*-[5-³H]. Zu 92 mg Natrium in 3 ml absolutem Methanol und 780 mg 3-Äthylthio-phenothiazin-[5-³H] in 15 ml trockenem Xylol werden nach dem Abdestillieren des Methanols 700 mg frisch destilliertes 1-Methyl-4-(3'-chlorpropyl)-piperazin in 5 ml Xylol gegeben, 3 Std. auf 150° erhitzt und dann auf die oben beschriebene Weise aufgearbeitet. 894 mg destillierte *Base* (Sdp. 200–210°/0,001 Torr) werden in 10 ml Alkohol gelöst und mit einer alkoholischen Lösung von 520 mg Maleinsäure versetzt, wobei das *Dimaleinat* kristallin ausfällt. Die Umkristallisation aus Alkohol ergibt 1,23 g Thiethylperazin-[5-³H] vom Smp. 177–178° und der spez. Aktivität 146 mC/mM. Das Präparat ist im Dünnschichtchromatogramm und im Papierchromatogramm (Fließmittel wie bei 2. angegeben) identisch mit Testmaterial und radiochemisch rein.

SUMMARY

A general method for labeling phenothiazines at specific positions in the ring with tritium is described. Specific activities of several hundreds of mC/mM are attainable.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien,
SANDOZ AG., Basel

61. Über die Autoxydation des Strophanthidins (3. Teil) Abbau von 10 β -Hydroxy-19-norperiplogenin zu Östron

51. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von Albert von Wartburg

(18. I. 63)

Kürzlich berichteten wir über den ungewöhnlichen Verlauf der Autoxydation von Strophanthidin in konzentrierter Lösung²⁾). Strophanthidin wird durch Luftsauerstoff unter CO₂-Eliminierung und Umlagerung zu einem neutralen Sekundärprodukt C₂₂H₃₂O₆ oxydiert. Der chemische Bau dieses Neutralstoffes (sog. Aglykon A) konnte aufgeklärt werden; es handelt sich um ein neuartiges 19-Norcardenolid, das als 10 β -Hydroxy-19-norperiplogenin (I) formuliert wurde¹⁾. Die vorliegende Arbeit beschreibt den systematischen Abbau von 10 β -Hydroxy-19-norperiplogenin zu Derivaten des 10 β -Hydroxy-19-norandrostans (XII und XIV) sowie zu Östron (XIII) und bringt damit einen ergänzenden Beweis für die Lage und Konfiguration der in I an C-10 postulierten tertiären OH-Gruppe.

Zum stufenweisen Abbau von 10 β -Hydroxy-19-norperiplogenin (I) wurde folgender im Formelschema angegebener Weg eingeschlagen: KMnO₄-Oxydation der 3-O-Acetylverbindung II lieferte den bereits beschriebenen Methylester III¹⁾. Die α -Glykolgruppierung an C(-5) – C(-10) wurde dabei nicht angegriffen, da III mit Thionylchlorid zum kristallisierten Sulfitderivat C₂₂H₃₀O₇S (IV) reagieren kann. IV wies im IR. eine für 5gliedrige Cyclosulfite charakteristische Bande bei 1210 cm⁻¹

¹⁾ 50. Mitt.: A. VON WARTBURG, J. BINKERT & E. ANGLIKER, *Helv.* 45, 2139 (1962).

²⁾ J. BINKERT, E. ANGLIKER & A. VON WARTBURG, *Helv.* 45, 2122 (1962).

auf³⁾ (Fig. 1). Mit dem Ester III liess sich durch Einwirkung von HCl in essigsaurer Lösung eine selektive Wasserabspaltung zum Δ^{14} -Derivat V erreichen. Hydrierung von V mit Platinkatalysator in Eisessig führte unter Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff zum gesättigten 14-Desoxyderivat $C_{22}H_{34}O_6$ (VI), das im IR.-Spektrum durch Banden der Acetoxy- und der Carbomethoxy-Gruppe bei 1745 resp. 1730 cm^{-1} charakterisiert war (Fig. 2). Beim Übergang von III in die 14-Desoxy-14 α -Verbindung VI wurde eine molekulare Rotationsdifferenz $[M]_D = +62^\circ$ beobachtet. Dieser Wert steht in guter Übereinstimmung mit entsprechenden Inkrementen bei ähnlich gebauten Paaren von Ätiansäuren⁴⁾. Der für einen tiefgreifenden Abbau entscheidende Schritt, die Konversion des Desoxyesters VI in das D-Ring-keton X, konnte nach BARBIER-WIELAND⁵⁾ ausgeführt werden. Bei Ätiansäuren ist dieses klassische Verfahren bisher nur in wenigen Fällen mit Erfolg zur Eliminierung der Carboxylgruppe verwendet worden⁶⁾. Zur Herstellung des primär erforderlichen Carbinols setzten wir VI mit *p*-Anisylmagnesiumbromid in abs. Tetrahydrofuran um. Die Einführung von

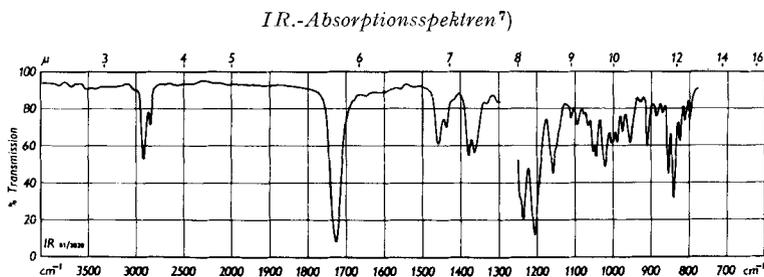


Fig. 1. Cyclosulfit IV in CH_2Cl_2

Anisylresten – anstelle der üblichen Phenylgruppen – erfolgte nach einem Vorschlag von FÉTIZON *et al.*⁸⁾ und sollte die später beabsichtigte Wasserabspaltung zum entsprechenden Diaryläthylen erleichtern. Aus den Reaktionsprodukten des GRIGNARD-

³⁾ D. BEN-ISHAY, *J. org. Chemistry* **23**, 2013 (1958); P. B. D. DE LA MARE, W. KLYNE, D. J. MILLEN, J. G. PRITCHARD & D. WATSON, *J. chem. Soc.* **1956**, 1813; A. VON WARTBURG & J. RENZ, *Helv.* **42**, 1620 (1959).

⁴⁾ Als Vergleichspräparate wurden 5 β -Hydroxyätiansäureester herangezogen, die an C-10 eine CH_3 - oder CH_2OH -Gruppe tragen. Die mittlere Rotationsdifferenz zwischen den entsprechenden 14 β -Hydroxy- und den 14-Desoxy-14 α -Verbindungen beträgt $+64^\circ$ (in Chloroform). Die benutzten Drehwerte stammten aus «Tables de Constantes et Données numériques 6. Constantes Sélectionnées, Pouvoir Rotatoire Naturel. I. Stéroïdes» von J. P. MATHIEU & A. PETIT, Paris 1956.

⁵⁾ P. BARBIER & R. LOQUIN, *C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci.* **156**, 1443 (1913); H. WIELAND, O. SCHLICHTING & R. JACOBI, *Z. physiol. Chem.* **167**, 80 (1926).

⁶⁾ Vgl. den Abbau des 3 α -Hydroxy-5 α -ätiansäure-methylesters zum Androsteron: O. DALMER, F. v. WERDER, H. HONIGMANN & K. HEYNS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **68**, 1814 (1935). Über weitere Abbauprodukte von Ätiansäuren siehe z. B.: T. REICHSTEIN & E. VON ARX, *Helv.* **23**, 747 (1940), und T. REICHSTEIN & H. KOEHLIN, *Helv.* **27**, 549 (1944).

⁷⁾ Alle IR.-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Mod. 21, aufgenommen.

⁸⁾ Die vermutlich über einen E_1 -Mechanismus verlaufende Dehydratisierung des Carbinols wird durch den elektromeren Effekt der *p*-ständigen CH_3O -Gruppen begünstigt; siehe: M. FÉTIZON, M. GOLFIER & A. RASSAT, *C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci.* **252**, 139 (1961).

Prozesses liess sich das gewünschte Dianisylcarbinol VII direkt auskristallisieren. Das Präparat besass die erwartete Bruttoformel $C_{33}H_{44}O_6$ und zeigte im IR. (Fig. 3) die typischen Banden der aromatischen Ringe und der OH-Gruppen; Esterbanden liessen sich hingegen nicht mehr feststellen. Durch Chromatographie der Mutterlaugen konnten noch zwei einheitliche Begleitstoffe isoliert werden. Der erste, $C_{16}H_{16}O_2$, erwies sich als 1,1-Bis-[4-methoxyphenyl]-äthylen⁹⁾. Das andere Nebenprodukt stellte

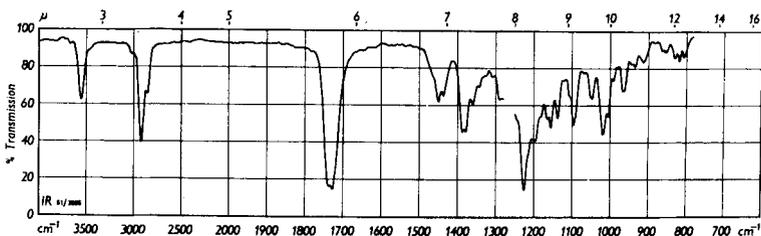


Fig. 2. 3β -Acetoxy-5,10-dihydroxy-17 β -carbomethoxy-5 β -östran (VI) in CH_2Cl_2

das Acetylderivat VIII dar und lieferte beim Verseifen eine weitere Fraktion Dianisylcarbinol VII. Die meist kritische Dehydratisierung des Diarylcarbinols erfolgte beim Dianisylderivat VII schon durch Kochen in Essigsäure⁸⁾ und führte vorwiegend zum Dianisyläthylen IX. Die Äthylenverbindung wurde ohne spezielle Reinigung in Essigesterlösung bei -80° mit trockenem Ozon behandelt, worauf die Ozonide reaktiv aufgearbeitet wurden. Bei der Chromatographie der Spaltprodukte an Aluminiumoxid fassten wir zuerst ein kristallisiertes aromatisches Keton $C_{15}H_{14}O_3$, das als 4,4'-Di-

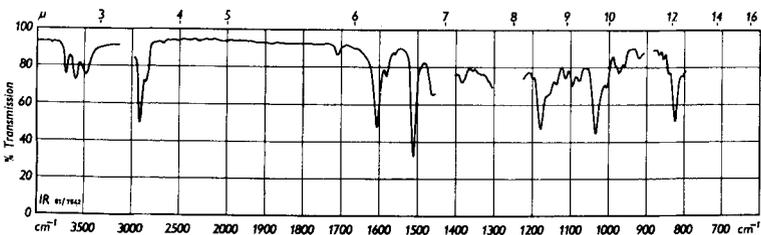


Fig. 3. Dianisylcarbinol VII in CH_2Cl_2

methoxybenzophenon¹⁰⁾ erkannt wurde. Aus den folgenden Fraktionen liess sich in mässiger Ausbeute eine zweite, ebenfalls kristallisierte Carbonylverbindung isolieren. Dieses Spaltstück mit der Summenformel $C_{18}H_{28}O_4$ stellte das erwartete $3\beta,5,10\beta$ -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstano-17-on (X) dar. Die IR.-Spektren von X sind durch eine intensive Bande bei 1735 cm^{-1} charakterisiert, die der Ketogruppe im fünfgliedrigen D-Ring entspricht (Fig. 4). Mit dem Trihydroxyketon X verfügten wir jetzt über ein Zwischenprodukt, das eine Korrelation mit dem bekannten 10β -Hydroxy-19-

⁹⁾ L. GATTERMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 22, 1129 (1889). Dieses Äthylenderivat bildet sich durch Reaktion der GRIGNARD-Verbindung mit der Acetylgruppe von VI zum Dianisylmethylcarbinol, das dann, wahrscheinlich bei der Chromatographie an Aluminiumoxid, dehydratisiert wird.

¹⁰⁾ M. BÖSLER, Ber. deutsch. chem. Ges. 14, 323 (1881).

nortestosteron (XII) ermöglichte. Dieses Diol XII wurde zuerst von PEDERSON *et al.*¹¹⁾ bei der mikrobiologischen Oxydation von 19-Nortestosteron als Nebenprodukt isoliert. Die von der UPJOHN-Gruppe vorgeschlagene Struktur XII¹¹⁾, insbesondere die 10 β -Orientierung des tertiären Hydroxyls, konnte später von DJERASSI und Mitarb. durch

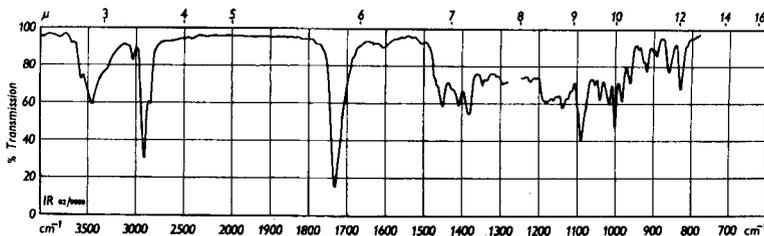


Fig. 4. 3 β ,5,10 β -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstan-17-on (X) in CH₂Cl₂

Synthese¹²⁾ und vergleichende Untersuchungen der Rotationsdispersionskurven¹³⁾ eindeutig gesichert werden. Zur Umformung unseres Abbauketons X reduzierten wir die Carbonylgruppe im D-Ring mit Lithium-tri-*t*-butoxy-aluminiumhydrid¹⁴⁾. Das gebildete 17 β -Hydroxyderivat XI wurde nicht isoliert, sondern direkt nach SNEEDEN & TURNER¹⁵⁾ an C-3 dehydriert und anschliessend zur Wasserabspaltung in Eisessig erwärmt. Aus dem Gemisch der Reaktionsprodukte liess sich nach chromatographischer Auftrennung in bescheidener Ausbeute ein kristallisierter Stoff vom Smp. 204–210° isolieren, der sich als das gesuchte 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) herausstellte. Die sichere Identifizierung erfolgte durch Vergleich mit einer authentischen Testprobe¹⁶⁾ (IR.-Spektren siehe Fig. 5). Unser Präparat war nicht völlig einheitlich und enthielt nach der Dünnschichtchromatographie beurteilt noch ca. 5% des ent-

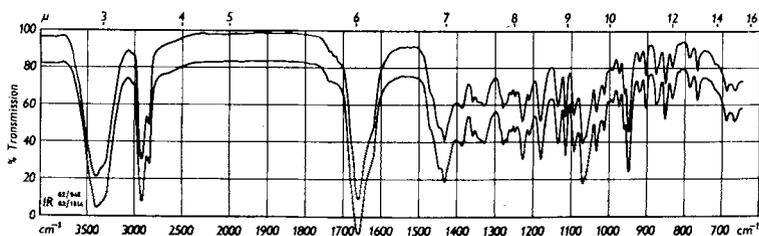


Fig. 5. 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) in KBr

obere Kurve: Authentisches Präparat¹⁶⁾; untere Kurve: Präparat aus Keton X oder durch Synthese aus Östron (XIII) hergestellt¹⁸⁾

¹¹⁾ R. L. PEDERSON, J. A. CAMPBELL, J. C. BABCOCK, S. H. EPPSTEIN, H. C. MURRAY, A. WEINTRAUB, R. C. MEEKS, P. D. MEISTER, L. M. REINEKE & D. H. PETERSON, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 1512 (1956).

¹²⁾ J. P. RUELAS, J. IRIARTE, F. KINCL & C. DJERASSI, *J. org. Chemistry* **23**, 1744 (1958).

¹³⁾ C. DJERASSI, R. RINIKER & B. RINIKER, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 6377 (1956).

¹⁴⁾ H. C. BROWN & R. F. McFARLIN, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 252 (1956); **80**, 5372 (1958).

¹⁵⁾ R. P. A. SNEEDEN & R. P. TURNER, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 130, 190 (1955).

¹⁶⁾ Wir danken Herrn Prof. DJERASSI und Herrn Dr. A. BOWERS, SYNTEX S.A. für die freundliche Überlassung einer Probe von 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron.

sprechenden 3,17-Diketons XIV. Bei der Dehydrierung des Tetrols XI war offensichtlich neben der beabsichtigten Oxydation an C-3 zum Teil auch ein Angriff auf die Alkoholfunktion an C-17 erfolgt¹⁷⁾.

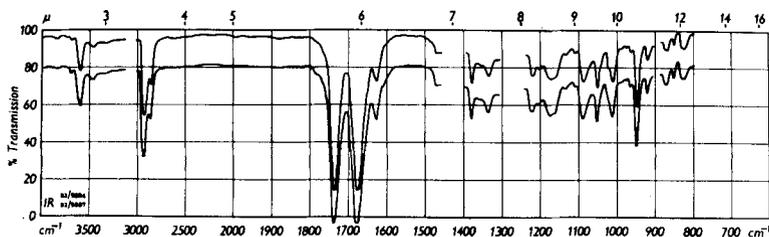


Fig. 6. 10β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) in CH_2Cl_2

obere Kurve: aus 10β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII); untere Kurve: aus Keton X

Wesentlich günstiger gestaltete sich die Verknüpfung des Trihydroxyketons X mit 10β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV). Diese Bezugssubstanz war zwar bis jetzt noch nicht bekannt; sie liess sich jedoch leicht durch partielle Oxydation von 10β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII)¹⁸⁾ erhalten. Die Dehydrierung der 17-OH-Gruppe mit Platin und Sauerstoff verlief in diesem Fall sehr langsam und gab stets Gemische von XIV mit dem Ausgangsmaterial. Reines 10β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) kristallisierte aus Äther in farblosen Blättchen vom Smp. $198\text{--}211^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +143^\circ$ (in Chloroform). Die beiden Carbonylgruppen sind im IR. deutlich durch Banden bei 1676 cm^{-1} (α,β -ungesättigtes Sechsringketon) und bei 1735 cm^{-1} (5-gliedriges Ringketon) differenziert (Fig. 6). Zur Überführung des Trihydroxyketons X in das Δ^4 -3,17-Diketon XIV wurde zuerst die Alkoholfunktion an C-3 mit Sauerstoff dehydriert und aus dem rohen 3-Oxoderivat durch Erwärmen in Eisessig Wasser abgespalten. Die Identität des resultierenden Produktes mit dem oben beschriebenen 10β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion ging aus den physikalischen Daten (Smp. $197\text{--}207^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +141^\circ$), insbesondere aus dem Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 6) hervor. 10β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) ist gegen Mineralsäuren nicht stabil. Einwirkung von Salzsäure in Eisessig²⁰⁾ führte schon in der Kälte unter Wasserabspaltung und Aromatisierung zu Östron (XIII) vom Smp. $249\text{--}254^\circ$, das durch Misch-Smp. und IR.-Spektren leicht identifiziert werden konnte. Mit dieser Reaktionsfolge ist eine stufenweise Umwandlung des 10β -Hydroxy-19-norperiplogenins (I) (und damit des Strophanthidins) über definierte Zwischenprodukte in Östron (XIII) erreicht worden.

17) Ähnliches Verhalten zeigten auch andere 17β -Hydroxysteroiden. So wurde z. B. in einem Modellversuch Testosteron mit Platin und Sauerstoff glatt zu Δ^4 -Androsten-3,17-dion oxydiert (s. exp. Teil).

18) Für präparative Zwecke stellten wir 10β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) nach DJERASSI¹²⁾ aus Östron (XIII) via 17β -Hydroxy-5(10)-östren-3-on¹⁹⁾ und $5\beta,10\beta$ -Oxido-19-norandrostan-17 β -ol-3-on¹²⁾ her (siehe exp. Teil).

19) A. J. BIRCH & S. M. MUKHERJI, J. chem. Soc. 1949, 2531; A. L. WILDS & N. A. NELSON, J. Amer. chem. Soc. 75, 5366 (1953).

20) Analoge Säurebehandlung von 10β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) lieferte Östradiol¹¹⁾¹²⁾.

Die Korrelation von I mit den in ihrer Struktur gesicherten Androstenderivaten XII und XIV ergibt einen eindeutigen Beweis, dass im 10 β -Hydroxy-19-norperiplogenin (I) an C-10 eine tertiäre OH-Gruppe mit β -Orientierung vorliegen muss, und bestätigt einwandfrei die früher postulierte Retention der Konfiguration an C-10 bei der Umlagerung von Strophanthidin¹). Im weiteren bildet der systematische Abbau des Strophanthidins zu Androstenderivaten (XII, XIV) und zu Östron (XIII) einen Beitrag an die von verschiedenen Arbeitskreisen unternommenen Versuche, die Herzgiftglykone für Synthesen natürlicher und künstlicher Steroidhormone heranzuziehen²¹).

Experimenteller Teil²²)

3 β -Acetoxy-5,10,14-trihydroxy-17 β -carbomethoxy-5 β ,14 β -östran (III). 5,0 g 3-O-Acetyl-10 β -hydroxy-19-norperiplogenin (II) wurden nach früheren Angaben¹) mit KMnO₄ in Aceton oxydiert. Aus der Säurefraktion (2,2 g) konnte nach Methylierung mit Diazomethan und chromatographischer Reinigung 1,0 g krist. Methylester III vom Doppel-Smp. 154–159°/177–184° gewonnen werden.

5,10-Cyclosulfit IV aus III. 200 mg Methylester III wurden in 3 ml abs. Pyridin gelöst und bei –15° mit 0,6 ml frisch dest. Thionylchlorid versetzt. Es fiel sofort ein Kristallbrei aus. Man liess 20 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss im Eiskasten stehen. Die jetzt braun gefärbte Reaktionslösung wurde auf 100 g zerstoßenes Eis gegossen und mit Chloroform erschöpfend ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformphasen wusch man mit Wasser neutral, trocknete über Na₂SO₄ und dampfte im Vakuum ein. Der Rückstand lieferte nach Chromatographie an Aluminiumoxid 150 mg einheitliches Cyclosulfit IV; aus Aceton perlmutterglänzende Blättchen vom Smp. 150–157°; $[\alpha]_D^{20} = +33,7^\circ$ ($c = 0,520$ in Chloroform). IR.-Spektrum: Fig. 1.

| | | | | |
|--|-------------|-------|--------|--------|
| C ₂₂ H ₃₀ O ₇ S | Ber. C 60,5 | H 6,9 | O 25,5 | S 7,3% |
| (438,53) | Gef. „ 60,4 | „ 6,8 | „ 25,3 | „ 7,2% |

3 β -Acetoxy-5,10,14-dihydroxy-17 β -carbomethoxy-5 β -östran-(14) (V). In eine Lösung von 1,0 g 3 β -Acetoxy-5,10,14-trihydroxy-17 β -carbomethoxy-5 β ,14 β -östran (III)¹) in 100 ml reinstem Eisessig wurde bei +10° während 1 Std. trockenes HCl-Gas eingeleitet. Die intensiv gelb gefärbte Lösung dampfte man bei 25° Badtemp. ein und chromatographierte den amorphen Rückstand an alkalifreiem Aluminiumoxid. Aus den mit Benzol-Chloroform (4:1 und 1:1) eluierten Fraktionen kristallisierten mit Äther 853 mg A¹⁴-Ester V vom Smp. 168–171°; $[\alpha]_D^{20} = +57,6^\circ$ ($c = 0,513$ in

²¹) Siehe z. B. M. STEIGER & T. REICHSTEIN, *Helv. 21*, 828 (1938); K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv. 30*, 1508 (1947); A. LARDON, *Helv. 32*, 1517 (1949); A. LARDON & T. REICHSTEIN, *Pharmaceut. Acta Helv.* 27, 287 (1952); M. EHRENSTEIN, *J. org. Chemistry* 9, 435 (1944); *Chimia* 6, 287 (1952); G. W. BARBER & M. EHRENSTEIN, *Liebigs Ann. Chem.* 603, 89 (1957); *J. org. Chemistry* 26, 1230 (1961); E. P. OLIVETO, L. WEBER, C. G. FINKENOR, M. P. PECHET & E. B. HERSHBERG, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 2831 (1959); J. S. BARAN, *Tetrahedron Letters* No. 13, 425 (1961); CH. TAMM & W. ZÜRCHER, *Helv. 46*, 237 (1963).

²²) Alle Schmelzpunkte sind auf dem KOFLER-Block bestimmt. Zur Messung der optischen Drehwerte wurden die Substanzproben 1 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Reinheitsprüfungen der Analysenpräparate erfolgten mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie; Ausführung nach E. STAHL²³). Zur Sichtbarmachung der Flecke wurden Antimontrichlorid oder 1-proz. Lösung von Cer(IV)-ammoniumnitrat in 50-proz. Schwefelsäure²⁴) benützt. Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER) ausgeführt. Die UV.- und IR.-Spektren wurden in unserer spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEE-MANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen. Fräulein E. KONSTANZER und den Herren R. KUNCKLER und A. NUSSBAUMER danken wir für geschickte experimentelle Mitarbeit.

²³) E. STAHL, *Angew. Chemie* 73, 646 (1961).

²⁴) Modifiziertes Alkaloidreagens nach SONNENSCHN. Vgl. z. B. O. E. SCHULTZ & D. STRAUSS, *Arzneimittel-Forsch.* 5, 342 (1955).

Chloroform). Das Präparat war dünnschichtchromatographisch einheitlich²⁵⁾. IR.-Spektrum: 3550 (OH), 1740 (Schulter) und 1230 (Acetat), 1730 (Carbomethoxy), 3050, 1645 (C=C) cm^{-1} .

| | | | | |
|--|-------------|-------|--------|----------------------------|
| $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_6$ | Ber. C 67,3 | H 8,2 | O 24,5 | CH_3O 7,9% |
| (392,48) | Gef. „ 67,3 | „ 8,3 | „ 24,2 | „ 7,4% |

3 β -Acetoxy-5,10-dihydroxy-17 β -carbomethoxy-5 β -östran (VI). Eine Lösung von 500 mg *A*¹⁴-Ester V in 50 ml Eisessig wurde mit vorhydriertem Katalysator aus 140 mg PtO_2 , H_2O unter Wasserstoff geschüttelt. Nach ca. 40 Min. waren 1,04 Mol. H_2 aufgenommen. Die vom Platin abfiltrierte Lösung wurde eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Äther-Pentan in rechteckigen Plättchen (400 mg) vom Doppel-Smp. 128–130°/150–152°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +78,7^\circ$ ($c = 0,483$ in Chloroform). Durch Chromatographie der Mutterlaugen liessen sich noch weitere 20 mg reiner Desoxyester (VI) gewinnen²⁶⁾. IR.-Spektrum: Fig. 2.

| | | | | |
|--|-------------|-------|--------|----------------------------|
| $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_6$ | Ber. C 67,0 | H 8,7 | O 24,3 | CH_3O 7,9% |
| (394,49) | Gef. „ 67,2 | „ 8,6 | „ 24,3 | „ 7,8% |

Diamisylcarbinol VII. 7,2 g frisch dest. *p*-Bromanisol und 1,08 g Magnesiumspäne in 24 ml abs. Tetrahydrofuran wurden zur GRIGNARD-Verbindung umgesetzt. Zur klaren, dunkel gefärbten Lösung fügte man in rascher Tropfenfolge 500 mg trockenen 14-Desoxyester VI in 24 ml abs. Tetrahydrofuran und erwärmte dann während 5–6 Std. rückfliessend unter Feuchtigkeitsabschluss. Die abgekühlte, immer noch klare Reaktionslösung wurde mit 60 ml Äther, 7 g fein zerstoßenem Eis und 24 ml 2N H_2SO_4 versetzt. Nach Abtrennung des Äthers schüttelte man die wässrige Schicht noch 3mal mit je 50 ml frischem Äther aus. Alle Ätherphasen wurden vereinigt, mit wenig Wasser neutral gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels verblieben 2,258 g gelbes Öl. Durch Verdünnen mit wenig Benzol schieden sich daraus 471 mg kristallisiertes Carbinol VII ab. Das Analysenpräparat wurde aus Aceton umkristallisiert und zeigte den Smp. 280–281°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -58,2^\circ$ ($c = 0,550$ in Chloroform). UV.-Spektrum: Maxima bei 223 (4,08); 237 (4,20); 272,5 (3,43); 283 (3,19) $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$). IR.-Spektrum: 3700, 3600, 3495 (OH), 1608, 1580, 1510 (aromat. Ring) cm^{-1} (Fig. 3).

| | | | | |
|--|-------------|-------|--------|-----------------------------|
| $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_6$ | Ber. C 73,9 | H 8,3 | O 17,9 | CH_3O 11,5% |
| (536,68) | Gef. „ 73,9 | „ 8,3 | „ 18,1 | „ 10,5% |

Die nach Abtrennung des kristallisierten Carbinols VII verbleibende Mutterlauge (1,780 g) wurde an Aluminiumoxid chromatographiert. Die mit Benzol eluierten Fraktionen (245 mg) kristallisierten aus wenig Äther zu farblosen Blättchen vom Smp. 130–132°. Das Präparat ist identisch mit 1,1-Bis-[4-methoxyphenyl]-äthylen⁹⁾²⁷⁾. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 90° sublimiert. IR.-Spektrum: 1790 (=C–H), 1662 (C=C), 1605, 1575, 1510 (aromat. Ring), 1250 cm^{-1} (aromat. Methyläther).

| | | | | | | |
|---|-------------|-------|---------|-------------|-------|---------|
| $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (240,29) | Ber. C 80,0 | H 6,7 | O 13,3% | Gef. C 80,2 | H 6,8 | O 13,5% |
|---|-------------|-------|---------|-------------|-------|---------|

Die späteren mit Benzol-Chloroform-Gemischen, reinem Chloroform und Chloroform-Methanol ausgewaschenen Fraktionen des Chromatogramms enthielten neben wenig VII vorwiegend das entsprechende 3-O-Acetylderivat VIII. Das Material (1,31 g) wurde in 9 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 0,6 g KOH in 0,6 ml Wasser über Nacht stehengelassen. Nach Verdünnen mit 9 ml Wasser wurde im Vakuum bei 23° auf ca. 8 ml eingedampft. Das wässrige Konzentrat schüttelte man erschöpfend mit Chloroform-Äther (1:2) aus. Die organischen Phasen wurden vereinigt, neutral gewaschen und eingedampft. Das anfallende gelbe Öl (0,80 g) lieferte nach Chromatographie und Kristallisation der Spitzenfraktionen aus Äther noch weitere 143 mg dünnschichtchromatographisch²⁸⁾ einheitliches Carbinol VII.

²⁵⁾ Aluminiumoxid-Platten, System: Chloroform + 0,5% Alkohol, Anfärbung: SbCl_3 .

²⁶⁾ Dünnschichtchromatographie: Silicagel-Platten, Lösungsmittel: trockenes Isopropylacetat, Anfärbung: SbCl_3 oder Cer(IV)-ammoniumnitrat²⁴⁾.

²⁷⁾ Eine Probe wurde mit CrO_3 in Eisessig oxydiert und lieferte in guter Ausbeute 4,4'-Dimethoxybenzophenon.

²⁸⁾ Silicagel-Platten, System: wassergesättigtes Isopropylacetat + 0,5% Methanol, Anfärbung: Cer(IV)-ammoniumnitrat²⁴⁾.

Dianisyläthylen-Derivat IX. 800 mg kristallisiertes Dianisylcarbinol VII wurden in 17 ml Eisessig aufgenommen und 75 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen verblieben 800 mg rohes Dianisyläthylen-Derivat IX, das ohne weitere Reinigung zur Spaltung mit Ozon verwendet wurde.

3 β , 5, 10 β -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstan-17-on (X). 800 mg rohe Dianisyläthylen-Verbindung IX wurden in 125 ml trockenem Essigester gelöst. In die auf -80° abgekühlte Lösung leitete man während 15 Min. trockenes Ozon ein. Die tiefblaue Reaktionslösung wurde noch 20 Min. bei -80° gehalten und dann trockener Stickstoff durchgeblasen. Die jetzt farblose Essigesterlösung dampfte man bei 20° im Vakuum ein, nahm den sirupösen Rückstand in 20 ml Eisessig auf und setzte unter Schütteln kleine Portionen Zinkstaub zu, bis KJ-Stärkepapier nicht mehr gebläut wurde. Dann filtrierte man, wusch mit Chloroform reichlich nach und dampfte das Filtrat ein. Der Rückstand wurde in Chloroform gelöst und mehrmals mit wenig Wasser gewaschen. Nach Eindampfen der Chloroformphase verblieben 799 mg gelber Lack. Die Auftrennung der Spaltprodukte erfolgte durch Chromatographie an Aluminiumoxid. Mit Benzol-Chloroform (1:1) wurden zuerst 400 mg farbloses Material eluiert, das aus abs. Alkohol zu sechseckigen Blättchen kristallisierte; Smp. $144-145^\circ$. Es handelt sich um einheitliches 4,4'-Dimethoxybenzophenon¹⁰). Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum bei 90° Badtemp. sublimiert.

| | | | | |
|-------------------|-------------|-------|--------|-------------------|
| $C_{15}H_{14}O_3$ | Ber. C 74,4 | H 5,8 | O 19,8 | (2) CH_3O 25,6% |
| (242,26) | Gef. „ 74,7 | „ 6,0 | „ 19,8 | „ 25,5% |

Die mit reinem Chloroform von der Säule abgelösten Spaltprodukte (117 mg) liessen sich nicht kristallisieren und wurden nicht weiter untersucht. Mit Chloroform-Methanol (99:1) konnten schliesslich 171 mg einer zweiten Ketonfraktion erhalten werden. Aus Aceton-Äther kristallisierte einheitliches²⁹) *3 β , 5, 10 β -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstan-17-on (X)* in farblosen, zu Rosetten angeordneten Prismen vom Smp. $208-212^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +79,3^\circ$ ($c = 0,473$ in Chloroform). IR.-Spektrum siehe Fig. 4.

| | | | | | | |
|----------------------------|-------------|-------|---------|-------------|-------|---------|
| $C_{18}H_{28}O_4$ (308,40) | Ber. C 70,1 | H 9,1 | O 20,8% | Gef. C 69,9 | H 8,9 | O 20,9% |
|----------------------------|-------------|-------|---------|-------------|-------|---------|

10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) – a) aus *3 β , 5, 10 β -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstan-17-on*: 72 mg 17-Keton X, in 3 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst, wurden mit 3 ml einer nach BROWN & McFARLIN¹⁴) hergestellten Reduktionslösung von $LiAlH_4[OC(CH_3)_3]_3$ (entspricht ca. 250 mg Metallkomplex) bei 0° versetzt und der Ansatz 1 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann gab man 24 ml 5-proz. wässrige Essigsäurelösung zu und schüttelte 5mal mit je 10 ml Chloroform aus. Die vereinigten Chloroformphasen wurden mit ges. $KHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene rohe *Tetrol XI* (68 mg) nahm man in 15 ml Aceton-Wasser (9:8) auf, versetzte mit Platinkatalysator (hergestellt durch Hydrierung von 45 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ in 3 ml Wasser) und schüttelte 21 Std. unter reinem Sauerstoff. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde eingedampft und das gebildete 3-Oxoderivat (67 mg) zur Wasserabspaltung 15 Min. in 3 ml Eisessig unter Einleiten von N_2 gekocht. Nach dem Eindampfen resultierten 67 mg Rohprodukt, die an Aluminiumoxid chromatographiert wurden. Mit Benzol-Chloroform (1:4) liessen sich 25 mg angereichertes *10 β -Hydroxy-19-nortestosteron* eluieren. Nachchromatographie und Umkristallisieren aus Aceton-Pentan ergaben 8,5 mg farblose Kristalle vom Smp. $204-210^\circ$. Das Präparat stimmte im IR.-Spektrum mit authentischem XII überein, enthielt jedoch auf Grund der Dünnschichtchromatographie²⁸) ca. 5% des entsprechenden Ketons XIV. Aus den Nebenfraktionen des Chromatogramms und aus den Mutterlaugen liess sich kein einheitliches Material mehr gewinnen.

b) Synthese aus Östron (XIII): Aus Östron (XIII) hergestellter Östradiol-3-methyläther¹⁰) wurde mit Lithium in flüssigem Ammoniak zum 1,4-Dihydroöstradiol-3-methyläther reduziert¹⁹). Ätherspaltung mit Oxalsäure ergab *17 β -Hydroxy-5(10)-östren-3-on¹⁹*) (= $\Delta^5(10)$ -19-Norandrost-17-ol-3-on¹²), das mit Phtalmonopersäure nach DJERASSI *et al.*¹²) zum entsprechenden *5 β , 10 β -*

²⁹) Dünnschichtchromatographie auf Silicagel-Platten. System: Chloroform + 15% Methanol, Anfärbung mit Cer(IV)-ammoniumnitrat²⁴) oder 2,4,2',4'-Tetranitrophenyl-NaOH¹) oder nach ZIMMERMANN³⁰).

³⁰) O. NEUNHOFFER, K. TEWALT & W. ZIMMERMANN, Z. physiol. Chem. 323, 116 (1961), und frühere Arbeiten.

Epoxid umgesetzt wurde. 1 g 5 β ,10 β -Oxido-19-norandrostan-17-ol-3-on¹²⁾ wurde in 160 ml 5-proz. methanolischer KOH-Lösung 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Die gelb gefärbte Lösung wurde dann mit 500 ml Wasser verdünnt und 6mal mit je 200 ml Äther ausgeschüttelt. Man vereinigte die mit Wasser neutral gewaschenen Ätherphasen, trocknete über Na₂SO₄ und verdampfte das Lösungsmittel. Den Rückstand (819 mg) chromatographierte man an Aluminiumoxid. Aus den mit Benzol-Chloroform eluierten Fraktionen (620 mg) wurden nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Pentan 267 mg einheitliches 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII) vom Smp. 208–215° erhalten; $[\alpha]_D^{20} = +76,4^\circ$ ($c = 0,465$ in Methanol)³¹⁾. Die Verbindung stimmte im IR.-Spektrum mit dem oben hergestellten Präparat sowie mit einer authentischen Probe von XII¹⁸⁾ überein (Fig. 5). UV.-Spektrum: λ_{max} bei 235 m μ ($\log \epsilon = 4,16$)³¹⁾.

C₁₈H₂₆O₃ (290,39) Ber. C 74,4 H 9,0 O 16,5% Gef. C 74,7 H 9,2 O 16,3%

10 β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV). – a) aus 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII): 100 mg 10 β -Hydroxy-19-nortestosteron (XII), in 18 ml Aceton und 10 ml Wasser gelöst, wurden mit Platinkatalysator (hergestellt durch Hydrieren von 50 mg PtO₂, H₂O in 6 ml Wasser) während 22 Std. unter reinem Sauerstoff geschüttelt. Man filtrierte vom Katalysator ab und dampfte das Filtrat ein. Der Rückstand (100 mg), der sich nach dem Dünnschichtchromatogramm²⁸⁾ beurteilt aus einem Gemisch von ca. 20% XIV und 80% Ausgangsmaterial XII zusammensetzte, wurde durch Chromatographie an Aluminiumoxid in die Komponenten aufgetrennt und das Ausgangsmaterial (XII) erneut der Dehydrierung unterworfen. Nach mehrfacher Wiederholung dieses Prozesses wurden die Fraktionen des 17-Ketoderivates vereinigt, erneut chromatographiert und das jetzt einheitliche Spitzenpräparat aus Äther umkristallisiert. 10 β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) bildete farblose Blättchen vom Smp. 198–211°; $[\alpha]_D^{20} = +143,0^\circ$ ($c = 0,490$ in Chloroform). IR.-Spektrum (in CH₂Cl₂): 3600 (OH), 1737 (Fünfringketon), 1675 (α, β -ungesätt. Sechsringketon) cm⁻¹ (Fig. 6).

b) aus 3 β ,5,10 β -Trihydroxy-19-nor-5 β -androstan-17-on (X): 70 mg 17-Keton X, gelöst in 14 ml Aceton und 5 ml Wasser, schüttelte man mit Platinkatalysator (hergestellt durch Hydrieren von 50 mg PtO₂, H₂O in 3 ml Wasser) während 21 Std. unter reinem Sauerstoff. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Verdampfen des Lösungsmittels wurde der kristallisierte Rückstand (70 mg vom Smp. 184–188°) dünn-schichtchromatographisch geprüft. Es lag praktisch reine 3-Oxo-Verbindung vor, die im IR. durch Banden bei 1735 (Fünfringketon) und 1715 cm⁻¹ (gesätt. Sechsringketon) charakterisiert war. Zur Wasserabspaltung wurde das Dehydrierungsprodukt in 5 ml Eisessig aufgenommen und während 15 Min. unter Einleiten von trockenem N₂ gekocht. Abdampfen des Lösungsmittels lieferte 70 mg rohes XIV, das durch Chromatographie an Aluminiumoxid gereinigt wurde. Die Spitzenfraktionen ergaben aus Aceton-Äther oder aus reinem Äther 35 mg kristallisiertes, einheitliches 10 β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) vom Smp. 197–207°; $[\alpha]_D^{20} = +141^\circ$ ($c = 0,455$ in Chloroform). Die Verbindung stimmte in allen Daten mit dem oben beschriebenen Präparat überein. Vergleich der IR.-Spektren: Fig. 6.

C₁₈H₂₄O₃ (288,37) Ber. C 75,0 H 8,4 O 16,6% Gef. C 74,8 H 8,7 O 16,8%

Östron (XIII) aus XIV. In eine Lösung von 50 mg 10 β -Hydroxy-19-nor- Δ^4 -androsten-3,17-dion (XIV) in 6 ml Eisessig leitete man bei +7° während 2 Std. trockenes HCl-Gas ein. Dann wurde bei 20° im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 20 ml Äther gelöst und mit gesättigter KHCO₃-Lösung und Wasser neutral gewaschen. Aus den Ätherphasen resultierten 49 mg gelbe Kristalle. Nach Chromatographie an Aluminiumoxid und Kristallisation der Spitzenfraktionen aus Aceton wurden 26 mg in der Dünnschichtchromatographie³²⁾ einheitliches Östron (XIII) vom Smp. 254–259° gewonnen. Misch-Smp. mit Testpräparat ohne Depression. Die sichere Identifizierung erfolgte durch Vergleich der IR.-Spektren.

O-Acetylöstron: Aus 25 mg kristallisierten Mutterlaugen aus obigem Ansatz durch Acetylierung mit Pyridin-Essigsäureanhydrid hergestellt: Kristalle vom Smp. 125–127°.

C₂₀H₂₄O₃ (312,39) Ber. C 76,9 H 7,7 O 15,4% Gef. C 77,1 H 7,9 O 15,3%

³¹⁾ C. DJERASSI *et al.*¹²⁾ geben folgende Daten an: Smp. 208–210°; $[\alpha]_D^{20} = +80^\circ$ (Methanol); UV.-Spektrum: λ_{max} bei 234–236 m μ ($\log \epsilon = 4,12$); IR.-Spektrum (in KBr): 1667 und 3340 cm⁻¹ (Fig. 5).

³²⁾ Silicagel-Platten, System: Chloroform-Aceton (9:1), Anfärbung: mit Cer(IV)-ammonium-nitrat²⁴⁾ oder nach ZIMMERMANN³⁰⁾.

Δ^4 -Androsten-3,17-dion aus Testosteron. Eine Lösung von 200 mg Testosteron in 28 ml Aceton-Wasser (9:5) wurde mit Platinkatalysator (hergestellt durch Hydrieren von 100 mg PtO_2 , H_2O in 6 ml Wasser) versetzt und 22 Std. unter Sauerstoff geschüttelt. Eine anfänglich beobachtete kristallisierte Ausscheidung ging später wieder in Lösung. Man filtrierte vom Katalysator ab und dampfte das Filtrat im Vakuum ein. Den Rückstand chromatographierte man an Aluminiumoxid. Die kristallisierten Spitzenfraktionen wurden vereinigt (155 mg) und aus Äther-Pentan umkristallisiert. Δ^4 -Androsten-3,17-dion bildet farblose Polyeder vom Smp. 174–176°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +187,2^\circ$ ($c = 0,505$ in abs. Alkohol)³³. IR.-Spektrum: 1730 (Fünfringketon), 1660, 1614 (α, β -ungesätt. Sechsringketon) cm^{-1} ; keine OH-Bande.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$ (286,40) Ber. C 79,7 H 9,2 O 11,2% Gef. C 79,6 H 9,0 O 11,4%

SUMMARY

By systematic degradation 10 β -hydroxy-19-norperiplogenin (I), a rearrangement product of strophanthidin, has been transformed into 10 β -hydroxy-19-norandrostane derivatives (XII and XIV) and estrone (XIII). The correlation with these steroid hormones of well known structure confirms the exact position and the β -orientation of the tertiary OH group at C-10 in 10 β -hydroxy-19-norperiplogenin (I).

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien
SANDOZ AG., Basel

³³) L. RUZICKA & A. WETTSTEIN, *Helv.* 35, 986 (1935).

62. Ein Verfahren zur quantitativen Isolierung reiner Sphingomyeline aus Menschen- und Rattenhirn

von L. Hausheer, W. Pedersen und Karl Bernhard

(18. I. 63)

Die zahlreichen zur Gewinnung von Sphingomyelinen angegebenen Verfahren beschränken sich zumeist auf eine präparative Abtrennung und weitgehende Reindarstellung, erlauben aber keine quantitative Isolierung dieser Lipidfraktionen. ROSENHEIM & TEBB¹⁾, LEVENE²⁾ und KLENK & RENNKAMP³⁾ erhielten unter Ausnützung von Löslichkeitsunterschieden aus menschlichen und tierischen Gehirnen Sphingomyeline. Verschiedene Autoren berechneten aus der Differenz des lipidlöslichen Phosphors und des nach alkalischer Hydrolyse vorliegenden anorganischen Phosphors den Sphingomyelingehalt. Chromatographische Phosphatidtrennungen auf Silikagel⁴⁾ lieferten keine reinen Sphingomyeline. SCHMIDT u. Mitarb.⁵⁾ trennten diese von den Monoamino-Phosphatiden durch alkalische Hydrolyse letzterer. In diesem Sinne verfahren auch BIETH, REBEL & MANDEL⁶⁾, welche die Phosphatide mit Aceton

1) O. ROSENHEIM & M. C. TEBB, *J. Physiol., Proc.* 1910/11, 1.

2) P. A. LEVENE, *J. biol. Chemistry* 18, 453 (1914); 24, 69 (1916).

3) E. KLENK & F. RENNKAMP, *Z. physiol. Chem.* 267, 145 (1941).

4) B. WEISS, *J. biol. Chemistry* 223, 523 (1956); G. M. GRAY & M. G. McFARLANE, *Biochem. J.* 70, 409 (1958).

5) G. SCHMIDT, J. BENOTTI, B. HERSHMAN & S. J. THANNHAUSER, *J. biol. Chemistry* 166, 505 (1946).

6) R. BIETH, G. REBEL & P. MANDEL, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 41, 1027 (1959).