

138. Synthese und Biologische Auswertung von $3\beta,20(R)$ -Dihydroxy-Protost-24-en¹⁾2)

von H. Immer und K. Huber

Ayerst Research Laboratories, Montreal, P.Q., Canada

(26. II. 71)

Summary. The possible lanosterol precursor, $3\beta,20(R)$ -dihydroxy-protost-24-ene (**1a**) has been prepared, in thirteen steps, from 3α -hydroxy- $4\alpha,8,14$ -trimethyl-18-nor- $5\alpha,8\alpha,9\beta,13\xi,14\beta$ -androstan-17-one (mixture of **2** and **3**). *In vitro* experiments with rat liver homogenates failed to convert **1a** to lanosterol.

Einleitung. Der sterische Verlauf der enzymatischen Umwandlung von Squalen in Lanosterin wurde erstmals 1955 von *Eschenmoser et al.* [3] diskutiert. In der Folge wurden viele experimentelle Stützen für die Hypothesen der Zürcher Schule beigebracht, die in den Publikationen von *Bloch* [4], *Frantz & Schroepfer* [5] und anderen (z.B. [6]) zusammengefasst sind. Ein Postulat der biogenetischen Isoprenregel allerdings – dasjenige des ununterbrochenen Reaktionsverlaufs – ist nur durch negative Evidenz, d.h. durch das Nichtauffinden von Zwischenstufen, belegt. In neuerer Zeit zeigten aber Arbeiten von *Corey* [7] und *van Tamelen* [8], dass in 2,3-Epoxysqualen eine solche vorliegt. Ob nicht weitere stabile Produkte auf dessen Weg zu Lanosterin existieren, bleibt eine immer noch offene Frage. Eine Zwischenstufe könnte vor allem durch Annahme einer Trennung von Cyclisations- und Umlagerungsvorgang vermutet werden, und in der Tat wurde diese Möglichkeit schon verschiedentlich in der Literatur diskutiert.

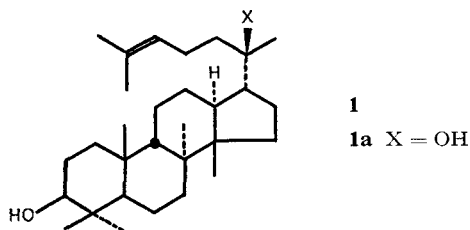
So haben *Bloch & Tchen* [9] das Vorliegen ungesättigter, nicht umgelagerter Verbindungen – in der hier verwendeten Nomenklatur 3β -Hydroxy-protosta-17(20),24-dien oder die isomeren 20(21),24 – resp. 20(22),24-Diene – in Betracht gezogen, sie dann aber auf Grund experimenteller Resultate ausgeschlossen. Eine Verbindung vom Typus **1** mit undefinierter Gruppe X wurde von *Richards & Hendrickson* [10] diskutiert. Mit der Strukturaufklärung von Fusidinsäure [11] und anderen Steroid-Antibiotika [12] [13] mit Protostangerüst war dann gezeigt, dass mindestens in Mikroorganismen Cyclisation des in Sessel-Wanne-Sessel-Wanne-Konformation gefalteten 2,3-Epoxysqualens ohne nachfolgende Umlagerung in das Lanosteringerüst vor sich gehen kann. *Corey et al.* [14] haben kürzlich Resultate publiziert, die es wahrscheinlich machen, dass in Schweineleberhomogenaten zwei modifizierte Squalene nicht umgelagerte cyclisierte Produkte liefern. Schliesslich sei noch auf die von *Cornforth* [15] entwickelte kohärente Theorie der Terpen-Biosynthese hingewiesen, in der ein Zwischenprodukt **1** benötigt wird.

Ein Weg zur Festlegung eines solchen schien uns in der Synthese möglicher Kandidaten und der Prüfung ihres Verhaltens in enzymatischer Umgebung zu liegen. Die

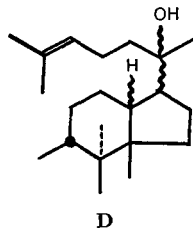
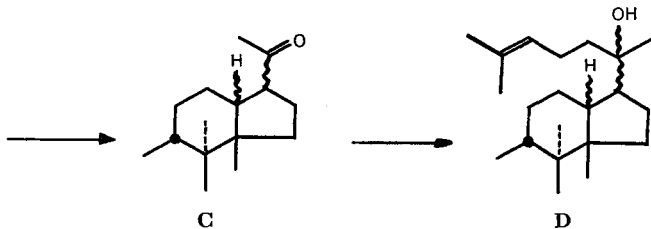
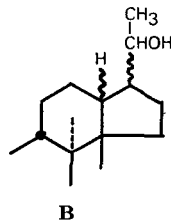
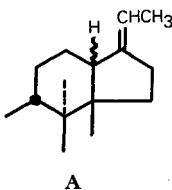
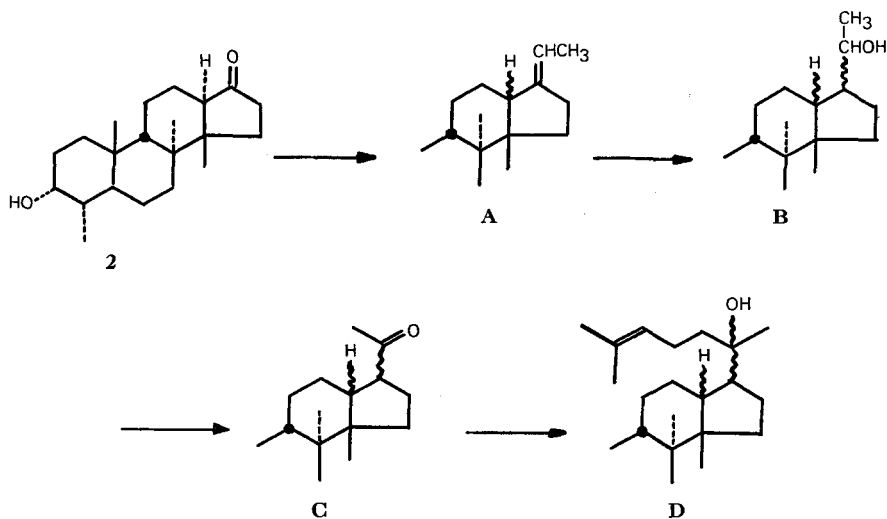
¹⁾ Teile dieser Arbeit wurden in einer vorläufigen Mitteilung publiziert [1].

²⁾ Die von *Tetsuyasu Hattori et al.* [2] vorgeschlagene Nomenklatur wird hier verwendet.

Synthese des einfachsten Vertreters $3\beta, 20(R)$ -Dihydroxy-protost-24-en (**1a**) wurde daher unternommen.



Ausgangsmaterial und Syntheseplan. Fusidinsäure [11], Helvolsäure [12] und Cephalosporin P₁ [13] waren als Ausgangsmaterial denkbar³⁾, doch sind sie alle stark funktionalisiert, so dass erhebliche Schwierigkeiten bei ihrer Überführung in die Titelverbindung **1a** zu erwarten waren. In 3 α -Hydroxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -androstan-17-on (**2**), einer von *Diassi et al.* [16] beschriebenen Abbauproduktverbindung aus Fusidinsäure, lag dagegen eine Verbindung mit Cyclopentanoperhydrophenanthren-Kern mit gewünschter Stereochemie und Stellung der Methylgruppen sowie ohne überflüssige Funktionen vor. Als synthetische Aufgaben stellten sich nach der Wahl dieser Verbindung als Ausgangsmaterial der Aufbau der Seitenkette und die Einführung der fehlenden Methylgruppe an C-4.



Die Lösung des ersten Problems war nach dem Schema $\mathbf{2} \rightarrow \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{B} \rightarrow \mathbf{C} \rightarrow \mathbf{D}$ geplant. Die Einführung der Acetylkette an normalen 17-Ketosteroiden gemäss dieser Folge wurde beschrieben [17], und *Grignard*-Reaktionen der resultierenden 20-Ketopregnan-Verbindungen wurden bereits verschiedentlich studiert [18].

³⁾ 3 β -Hydroxy-protosta-17(20)[16,21-*cis*], 24-dien [2] war zu Beginn unserer Arbeit nicht bekannt und ist auch jetzt noch schwer zugänglich.

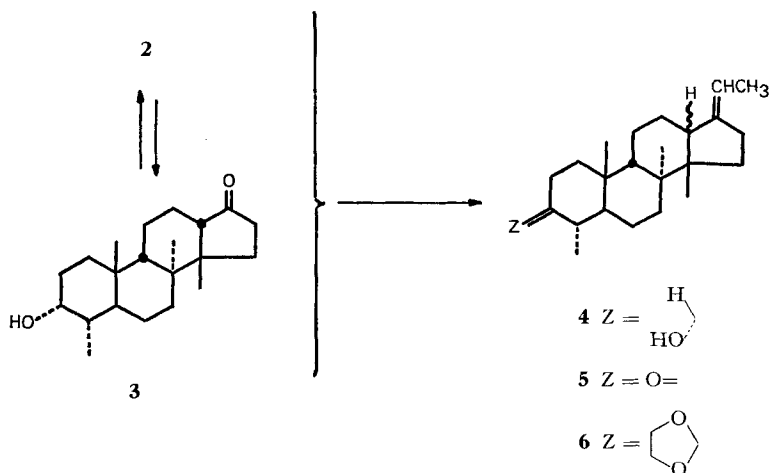
Die Einführung der Methylgruppe an C-4 erfolgte in der hier beschriebenen Synthese nach vollständigem Aufbau der Seitenkette.

In dieser einfachen Reaktionsfolge stellten sich vor allem Probleme der sterischen Kontrolle an C-17 und C-20 und unerwarteterweise auch an C-13.

Synthetische Arbeiten. Nach modifizierter *Wittig*-Reaktion [19] an **2** wurde in 76-proz. Ausbeute ein dünn-schichtchromatographisch einheitliches Produkt der Konstitution **4** isoliert, das bei gas-chromatographischer Analyse des Trimethylsilyläthers zwei Pike gleicher Intensität zeigte. Identische Produktverteilung wurde beobachtet, wenn 3 α -Hydroxy-4 α , 8, 14-trimethyl-18-nor-5 α , 8 α , 9 β , 14 β -androst-17-on (**3**) [16] oder eine equilibrierte Mischung von **2** und **3** derselben Behandlung unterworfen wurden.

Diese Beobachtung zeigte, dass in der *Wittig*-Reaktion die Spezifität der C/D-Ringverknüpfung verloren gegangen war, und dass sich in den Folgeprodukten die Aufgabe stellen würde, die Stereochemie an C-13 zu bestimmen.

Nach *Moffat*-Oxydation [20] des Olefingemischs **4** zu **5** und säurekatalysierter Ketalisierung der entstandenen Ketofunktion wurde ein Reaktionsgemisch isoliert, das bei gas-chromatographischer Analyse neben einem erwarteten Pikpaar im Verhältnis 1:1 einen dritten Pik zeigte. Seine Intensität erwies sich als abhängig von der Dauer der Ketalisierungsreaktionen. In der Folge konnte gezeigt werden, dass dieser Pik der Verbindung **7** zuzuordnen ist.



Nach Behandlung des Olefingemischs **6** mit Diboran, gefolgt von basischem Peroxid, resultierte ein Reaktionsgemisch, das teilweise durch Säulenchromatographie getrennt werden konnte. Es wurden nach steigender Polarität eluiert: a) ein zum Ausgangsmaterial isomeres Olefin; b) ein Gemisch von zwei Alkoholen, das in der Folge teilweise aufgetrennt werden konnte; c) ein untrennbares Alkoholgemisch.

Die Strukturen der einzelnen Komponenten wurden auf Grund folgender Beobachtungen und Experimente aufgeklärt:

a) Elementaranalyse und Massenspektrum legten die Bruttoformel $C_{25}H_{40}O_2$ fest. Im NMR.-Spektrum fehlte das Signal für das im Ausgangsmaterial vorhandene Vinyl-

proton. Die plausible Struktur **7** ging eindeutig aus dem 220-MHz-NMR.-Spektrum und Doppelresonanzexperimenten hervor. Methylsignale wurden bei $\delta = 0,80$ ppm (*d*, $J = 6$ Hz), $0,92$ (*t*, $J = 6,5$ Hz), $0,93$ (*s*), $0,96$ (*s*) und $1,04$ (*s*) beobachtet. Die bei Einstrahlung im Frequenzbereich von Allylprotonen ($2,10$ ppm) bewirkte Entkopplung des Triplets stellte die in **7** auftretende Sequenz mit einer Äthylgruppe an einer tetrasubstituierten Doppelbindung sicher (Fig. 1). Die Retentionszeit von **7** im Gas-

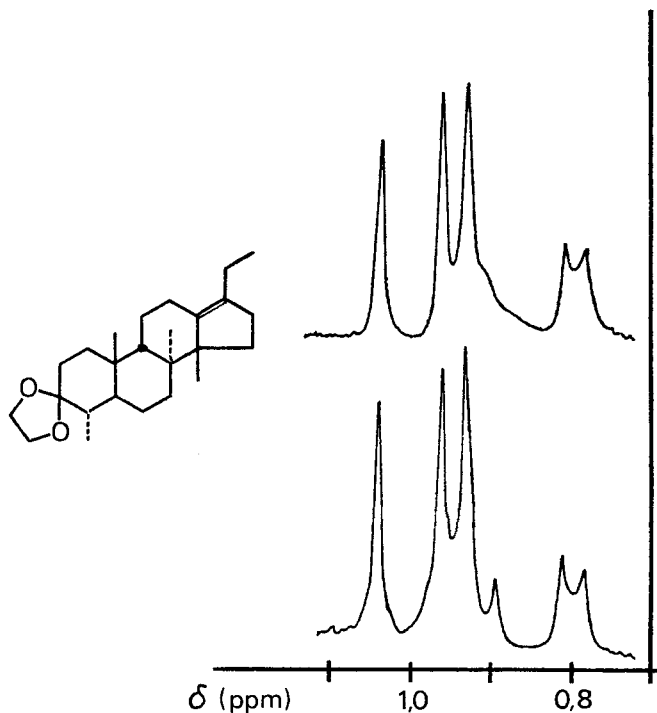
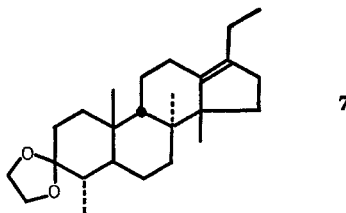


Fig. 1. Methylregion des 220-MHz-NMR.-Spektrums von $3\alpha,3\beta$ -Äthylendioxy- $4\alpha,8,14$ -trimethyl- 18 -nor- $5\alpha,8\alpha,9\beta,14\beta$ -pregn- $13(17)$ -en (**7**) (unten) und durch Einstrahlung bei $2,10$ ppm entkoppeltes Spektrum (oben)



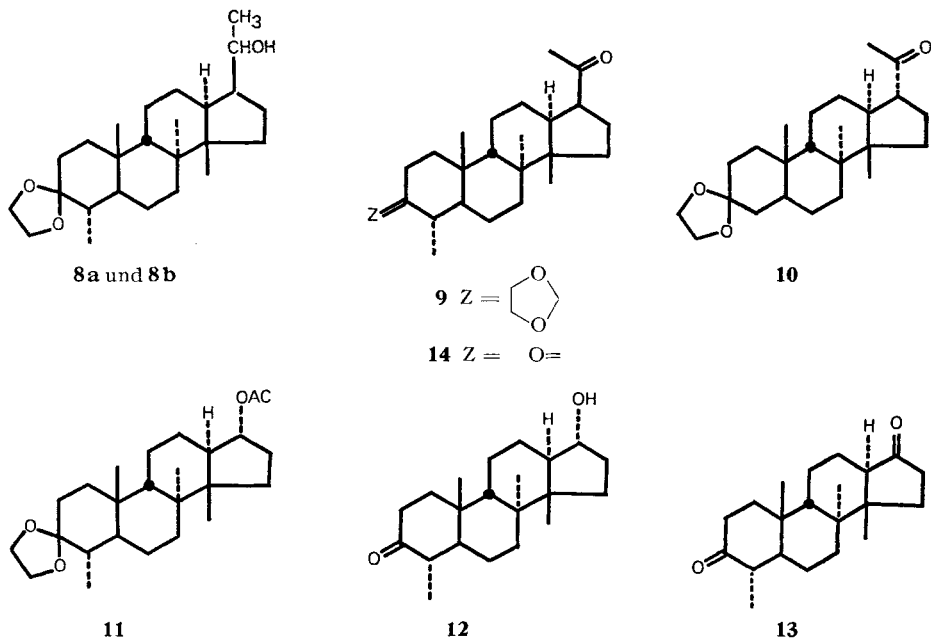
Chromatogramm ist identisch mit derjenigen des vorgängig erwähnten dritten Piks im Ausgangsgemisch, so dass angenommen wurde, dass die Verbindung bereits in der Ketalisierungsreaktion durch säurekatalysierte Verschiebung der labilen $17,20$ -Doppelbindung in die $13,17$ -Lage entstanden war. Dass die tetrasubstituierte Doppelbindung in der Tat unter den angewandten Hydroborierungsbedingungen inert ist,

wurde in einem Experiment mit reinem **7** gezeigt, das quantitativ zurückgewonnen werden konnte.

b) Die aus zwei Alkoholen bestehende Fraktion konnte teilweise in ihre Komponenten aufgetrennt werden, welche die erwartete Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O_3$ hatten. Aus beiden Verbindungen resultierte nach Oxydation mit Chromtrioxid in Pyridin dasselbe Keton **9**, was beweist, dass sie sich nur in der Chiralität des sauerstofftragenden C-20 unterscheiden. Die Stereochemie von **9** wurde auf folgende Art festgelegt:

Nach Behandlung mit methanolischer Kalilauge resultierte in quantitativer Ausbeute ein *iso*-Keton **10**. Dieses lieferte nach *Bayer-Villiger*-Oxydation mit *m*-Chlorperbenzoesäure in guter Ausbeute ein Acetat **11**, das nach basischer Hydrolyse, Entketalisierung und Oxydation nach *Moffat* [20] in ein Diketon übergeführt wurde, welches identisch war mit authentischem $4\alpha,8,14$ -Trimethyl-18-nor- $5\alpha,8\alpha,9\beta,13\alpha,14\beta$ -androst-3,17-dion (**13**) [16]. Nach Festlegung der *C/D-trans*-Verknüpfung folgt die Stereochemie an C-17 aus einfachen Modellbetrachtungen: Hydroborierung von der weniger gehinderten Seite führt zu den Alkoholen **8a** und **8b** mit β -ständiger Seitenkette. Nach Oxydation resultiert das Keton **9**, welches durch basische Behandlung in die stabilere Verbindung **10** mit α -ständiger quasi-äquatorialer Acetylgruppe übergeht.

Somit lag im Keton **10** eine Verbindung mit der benötigten Stereochemie an C-13 und C-17 vor.

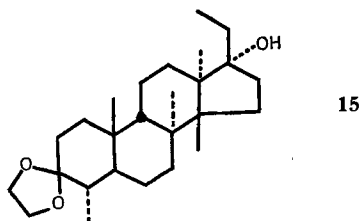


c) Aus dem komplexen Alkoholgemisch konnten nach Oxydation mit Chromtrioxid in Pyridin folgende Verbindungen isoliert werden:

Ein Keton $C_{25}H_{40}O_3$, welches sich bei Vergleich als identisch mit **10** erwies. Die Bildung dieses Ketons wies darauf hin, dass in der Hydroborierungsreaktion in beiseideinem Ausmasse Angriff von der β -Seite erfolgt war.

Ein Diketon $C_{23}H_{36}O_2$, welches identisch war mit 4 α ,8,14-Trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregnan-3,20-dion (**14**), das durch saure Hydrolyse von **9** gewonnen wurde.

Ein tertiärer Alkohol $C_{25}H_{42}O_3$, der durch Behandlung mit siedender Acetanhydrid-Pyridin-Mischung ins Olefin **7** übergeführt werden konnte. Dies lässt darauf schliessen, dass es sich um den durch umgekehrte Diborananlagerung gebildeten Alkohol **15** handelt. Die angeführte plausible Stereochemie an C-13 und C-17 ist allerdings nicht bewiesen.



Summierung der Ausbeuten an **9** (42%), **10** (6,5%) und **14** (3%) zeigt, dass 51,5% an Verbindungen gewonnen wurden, die alle C/D-*trans*-Verknüpfung besitzen. Da im Ausgangs-Olefinemisch neben 17% an unreaktivem Olefin **7** gas-chromatographisch je ca. 40% der isomeren Olefine mit Struktur **6** festgestellt wurden, muss geschlossen werden, dass beide Isomere zu Verbindungen mit *trans*-Verknüpfung führen. Dies, zusammen mit der bereits erwähnten Tatsache, dass **2** und **3** zu identischer Produktverteilung in der Reaktionsfolge führen, lässt folgende Interpretation der Wittig-Reaktion zu: Der Anlagerung des Ylids ist das Gleichgewicht $2 \rightleftharpoons 3$ vorgelagert [16]. Die Verbindung **2** reagiert schneller in der Wittig-Reaktion, so dass als Produkte, ungeachtet der ursprünglichen Ringverknüpfung, die beiden Doppelbindungsisomeren der Konstitution **4**, mit α -ständigem Wasserstoff in 13-Stellung gebildet werden.

Reaktion von Keton **10** mit dem Grignard-Reagenz aus 1-Brom-4-methyl-pent-3-en führte in guter Ausbeute zu einem kristallinen tertiären Alkohol der erwarteten Zusammensetzung $C_{31}H_{52}O_3$. Dem einheitlichen Produkt kann unter Voraussetzung der Gültigkeit der Cram'schen Regel [21] die Struktur **16** mit R-Chiralität an C-20 zugewiesen werden.

Als Nebenprodukt fiel ein Alkohol $C_{25}H_{42}O_3$ an, der nach Oxydation mit Chromtrioxid in Pyridin das Ausgangsketon **10** lieferte. Ihm kommt demzufolge die Struktur **17** zu, und seine Bildung ist durch die schon oft beobachtete Reduktion im Verlaufe von Grignard-Reaktionen erklärt (siehe z.B. [22]).

Nach saurer Hydrolyse der Äthylendioxyverbindung **16** resultierte 20(R)-Hydroxy-31-nor-protost-24-en-3-on (**18**), bei dem nun noch die fehlende Methylgruppe an C-4 einzuführen war.

Wurde das Keton **18** mit einem Mol Natriumhydrid, gefolgt von einem Überschuss an Methyljodid, behandelt, so resultierte ein Gemisch zweier schwer trennbarer Produkte. Es gelang eine Verbindung rein darzustellen und ihr die Bruttoformel $C_{30}H_{50}O_2$ zuzuordnen. Ihr 220-MHz-NMR.-Spektrum zeigte, dass es sich um eine in 2-Stellung alkylierte Verbindung handelte, da neben sechs Methylsingulettten zwei

Dublette bei $\delta = 1,01$ und $1,06$ ppm, beide mit einem $J = 6,5$ Hz, sichtbar waren (Fig. 2).

Die reine Verbindung der Konstitution **19** liess sich mit Kaliumhydroxid in Methanol zum ursprünglichen Produktgemisch equilibrieren. Es stand damit fest, dass zwei isomere, in 2-Stellung monoalkylierte Verbindungen vorlagen.

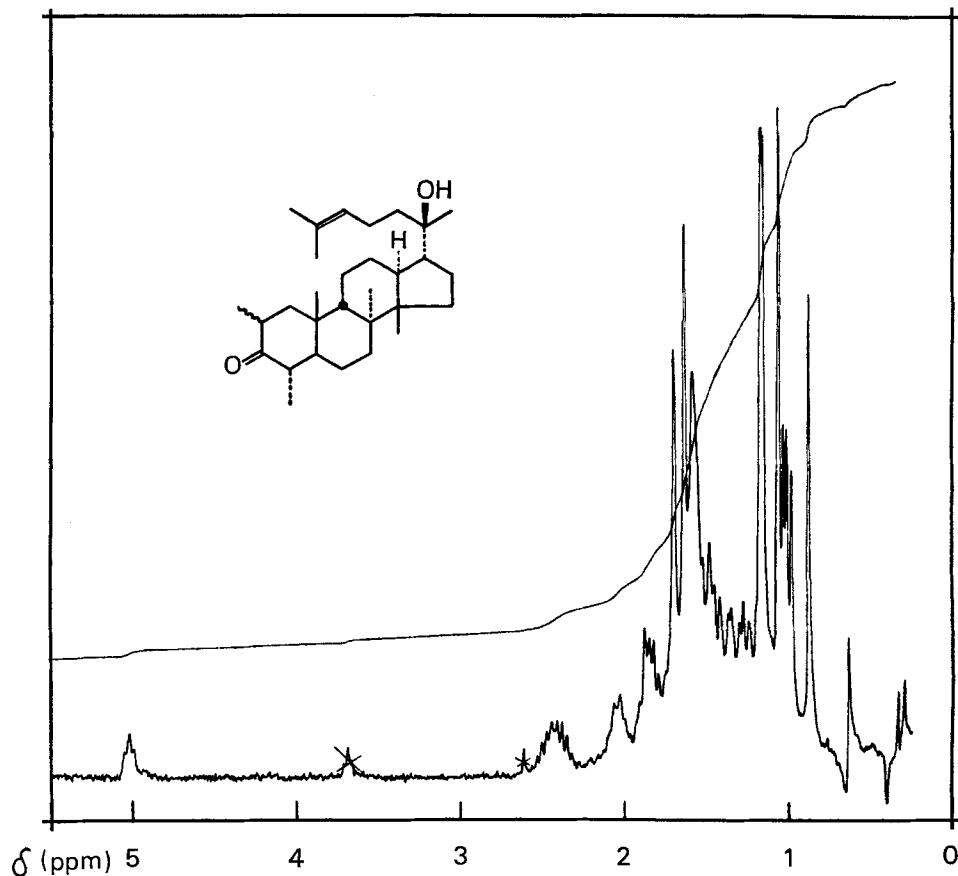
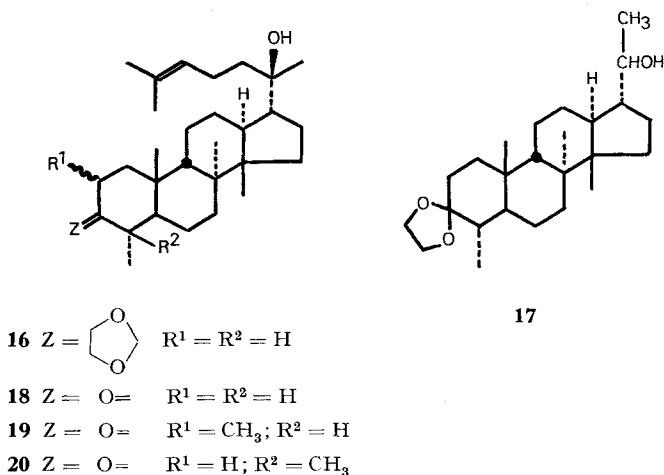


Fig. 2. 220-MHZ-NMR.-Spektrum von 20(R)-Hydroxy-2ξ-methyl-31-nor-protost-24-en-3-on (**19**), aufgenommen mit 2,5 mg (Akkumuliertes Spektrum von 57 Scans)

Erstaunlich schien, dass die beiden Komponenten in der äquilibrierten Mischung ungefähr im Verhältnis 1:1 vorhanden waren, würde doch **19** mit den Methylgruppen an C-2 und C-4 in äquatorialer Stellung *a priori* als die stabilste Verbindung erwartet. Modellbetrachtungen machen das 2β-Isomere mit Ring A in Wannenform als zweites Isomeres wahrscheinlich.

In der Folge wurde die 2-Stellung durch Einführung der *n*-Butylthiomethylen-Gruppe nach Ireland & Marshall [23] blockiert. Die Methylierung der resultierenden Verbindung gelang in guter Ausbeute mit Kalium-*t*-Amylat in Toluol [24] als Base

und Methyljodid. Nach drastischer basischer Behandlung resultierte 20(*R*)-Hydroxyprotost-24-en-3-on (**20**). Reduktion von **20** mit Natriumborhydrid führte schliesslich zur Titelverbindung **1a** ($C_{30}H_{50}O_2$, Smp. 149–150°).



Das 220-MHz-NMR.-Spektrum von **1a** (Fig. 3) zeigt acht scharfe Methylsingulette. Da im Falle von 20-Hydroxycholestan-Verbindungen signifikante Unterschiede der chemischen Verschiebung der 21-Methylgruppe der beiden epimeren 20-Alkohole festgestellt wurden [18], kann dieses Spektrum als Hinweis für die Spezifität der Chiralität an C-20 von **1a** betrachtet werden. Im weiteren zeigen die Kopplungskonstanten des C-3 Carbinolprotons bei $\delta = 3,19$ ppm ($J_{aa} = 11$ Hz, $J_{ae} = 5,5$ Hz) die β -ständige Lage der Hydroxylfunktion an.

Biologische Experimente. Das in der beschriebenen Synthese der Titelverbindung **1a** eingesetzte 1-Brom-4-methyl-pent-3-en bot eine geeignete Gelegenheit zur Einführung der für biologische Experimente benötigten radioaktiven Markierung. So wurde in dem von *Julia et al.* [25] beschriebenen ergiebigen Herstellungsverfahren für diese Verbindung Methyl-cyclopropyl-ke-ton mit der *Grignard*-Verbindung aus ^{14}C -markiertem Methyljodid versetzt und das resultierende α, α -Dimethyl-cyclopropyl-methanol mit Bromwasserstoffsäure zu 1-Brom-4-methyl-pent-3-en geöffnet. Wurde diese Verbindung in der Umsetzung **10** $\rightarrow$ **16** eingesetzt, so resultierte nach den Folgereaktionen schliesslich 3 β , 20(*R*)-Dihydroxy-protost-24-en (**1a**), das an C-26 oder C-27 markiert war. Die synthetisierte Verbindung hatte eine spezifische Aktivität von 167000 ipm/mg⁴).

Leberhomogenate wurde in Anlehnung an *Bucher* [26] hergestellt. Ein typisches Experiment wurde folgendermassen ausgeführt⁵):

⁴) Radioaktivitätsmessungen wurden in Omni-fluor-Lösung (*New England Nuclear*) mit einem *Packard*-Flüssigkeits-Scintillations-Zähler Modell 3375 ausgeführt.

⁵) Diese Experimente wurden in unserer biochemischen Abteilung (Leitung Dr. *D. Dvornik*) von Fräulein *E. Langenbach* ausgeführt, der wir für ihre wertvolle Mitarbeit danken.

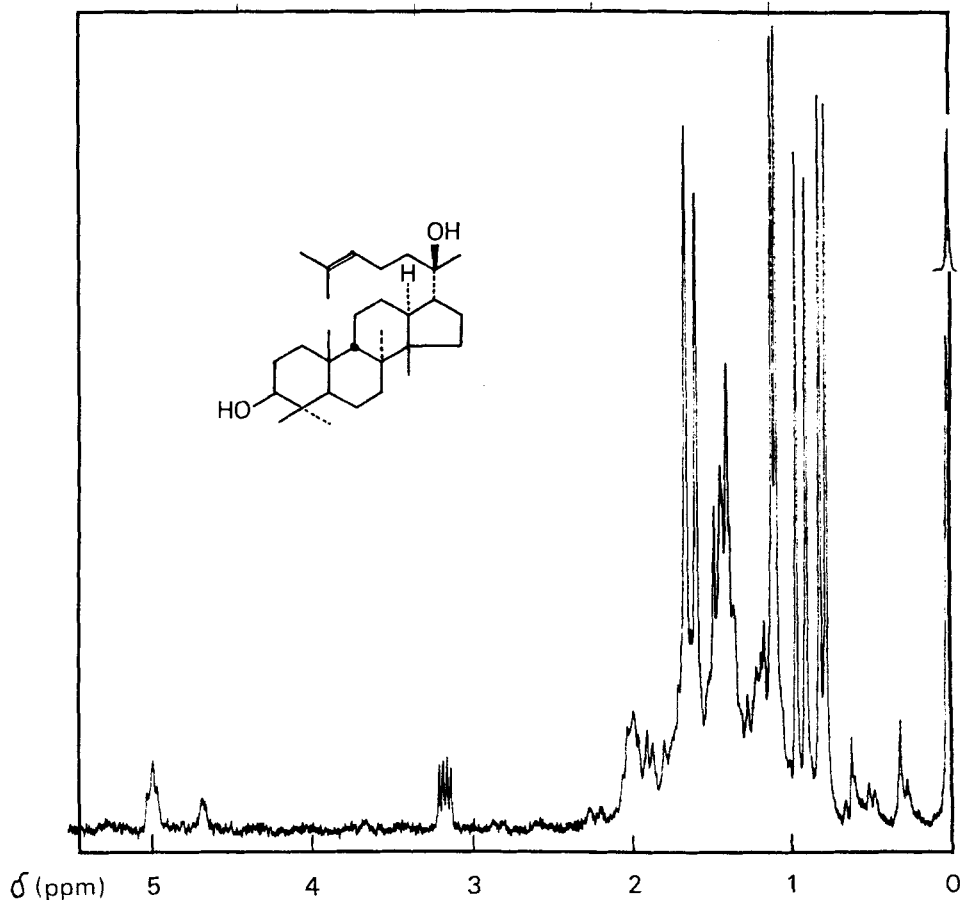


Fig. 3. 220-MHz-NMR.-Spektrum von $3\beta,20(R)$ -Dihydroxy-protost-24-en (**1a**)

Lebern von 120–150 g schweren männlichen Albino-Ratten wurden mit eiskalter Kochsalzlösung perfusioniert, gehackt und in 2,5-fache Gewichtsmenge von 0,1 M Kaliumphosphatpuffer, der 0,05 Mol Magnesiumchlorid und 0,03 Mol Nicotinamid enthält, gebracht. Nach Homogenisierung [26] wurde 5 Min. zentrifugiert ($500 \times g$ bei 0°) und die überstehende zellfreie Lösung in der nachfolgenden Inkubation benutzt.

2,07 mg markiertes $3\beta,20(R)$ -Dihydroxy-protost-24-en (**1a**) (340 600 ipm) wurden mit 5 ml Phosphatpuffer der 0,5% Bovin-Serumalbumin enthielt 15 Min. bei 0° durch Ultraschall-Oszillation emulgiert. Die Emulsion, 50 ml Leberhomogenat und eine Lösung der Kofaktoren ATP (51,2 mg), Glucose-6-phosphat (27,6 mg), NADP (27,6 mg) und NADH_2 (22,2 mg) in 1,5 ml Wasser wurden in einer Kristallisierschale im *Dubnoff*-Incubator während einer Std. bei 37° in einer Atmosphäre von Sauerstoff (95%) und Kohlendioxid (5%) inkubiert. Nach Beigabe von 10 g Kaliumhydroxid, 13,8 mg unmarkiertem $3\beta,20(R)$ -Dihydroxy-protost-24-en (**1a**) und 70 ml Äthanol wurde die Mischung in einen Rundkolben transferiert und während $1\frac{1}{2}$ Std. bei 70° verseift. Nach normaler Aufarbeitung mit Hexan wurde ein Rohextrakt mit einer Gesamtaktivität von 182 000 ipm gewonnen (52,7% der eingesetzten Radioaktivität). Durch Chromatographie an 10 g Silicagel mit Benzol-Äthylacetat (10:1) wurden 11,2 mg Cholesterin und 10 mg $3\beta,20(R)$ -Hydroxy-protost-24-en (**1a**) dünnstichtchromatographisch rein gewonnen. – Die Radioaktivität der Cholesterinfraktion betrug 23 550 ipm. Nach Zugabe von 22,4 mg Trägercholesterin wurde das Dibromderivat [28] her-

gestellt und dieses mehrmals aus Aceton-Methanol umkristallisiert. Nach dreimaligem Umlösen konnte keine signifikante Radioaktivität mehr festgestellt werden, wodurch gezeigt war, dass die ursprüngliche Aktivität nicht von Cholesterin herrührte. – Die Protosterolfraction (Gesamtradioaktivität 145400 ipm) wurde zu einer konstanten Aktivität von 15600 ipm/mg umkristallisiert.

Zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität des Leberhomogenates wurden in einem Parallel-experiment 5 ml desselben, 0,15 ml der Kofaktordlösung und $[2-^{14}\text{C}]$ -Acetat mit Radioaktivität 4251000 ipm (spezifische Aktivität 1,91 C/0,36 mol) auf analoge Weise inkubiert. Nach Stoppen der Inkubation mit Kaliumhydroxid und Zugabe von 50 mg Trägercholesterin wurde wie vorher verseift, extrahiert und dann bromiert. Das Dibromcholestanol wurde zu konstanter Radioaktivität umkristallisiert. Die Gesamtaktivität derselben betrug 32132 ipm (0,76% Inkorporation).

In Wiederholungen wurden in analoger Weise 2,51 mg, 2,5 mg und 2,5 mg radioaktives $3\beta, 20(R)$ -Hydroxy-protost-24-en (**1a**) eingesetzt. Die zurückgewonnene Radioaktivität betrug nach Inkubation und Verseifung 31%, 41% und 35,5% der eingesetzten. In keinem Falle konnte in dem auf analoge Weise gewonnenen Dibromcholestanol signifikante Radioaktivität festgestellt werden.

Somit kann $3\beta, 20(R)$ -Hydroxy-protost-24-en (**1a**) in Rattenleberhomogenaten unter Bedingungen, die von Lanosterin zu Cholesterin führen [27], nicht in Cholesterin umgewandelt werden. Die Verbindung ist jedoch unter diesen Bedingungen nicht stabil, was durch bedeutende Verluste an Radioaktivität dokumentiert ist.

Die Ergebnisse scheinen $3\beta, 20(R)$ -Hydroxy-protost-24-en (**1a**) als möglichen Vorläufer von Cholesterin in dessen Biosynthese in Rattenleberhomogenaten auszuschliessen.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Alle Smp. sind unkorrigiert. Analysen und physikalische Bestimmungen wurden in unserer analytischen Abteilung (Leitung Dr. G. Schilling) ausgeführt. IR.-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer, Modell 225, aufgenommen. Die NMR.-Spektren (aufgenommen auf einem Varian A-60-A in CDCl_3 -Lösung) sind in folgender Weise beschrieben: δ -Wert in ppm bezogen auf internes Tetramethylsilan; Multiplizität in den gebräuchlichen Buchstaben; Kopplungskonstanten in Hz; Zuordnung. Drehungen wurden in einem 10-cm-Rohr mit Dioxan als Lösungsmittel bestimmt.

Die im Text wiedergegebenen 220-MHz-NMR.-Spektren verdanken wir der «Ontario Research Foundation, Sheridan Park». Die Masspektren (MS.) wurden bei Morgan-Schaffer, Montreal, mit einem RMU-6 Perkin-Elmer-Hitachi-Gerät aufgenommen.

Für Dünnschichtchromatographie wurden mit MN-Kieselgel G beschichtete Platten verwendet. Zur Säulenchromatographie diente Silicagel Merck (0,05–0,2 mm). Gepuffertes Silicagel wurde durch Aufschlämmen des Gels in Phosphatpuffer (pH 7,5), Abnutschen und Reaktivieren bei 120° hergestellt.

Normales Aufarbeiten heisst: Aufnehmen des in Wasser oder Eis gegossenen Reaktionsgutes im bezeichneten Lösungsmittel, Neutralwaschen der organischen Phase mit Wasser, Trocknen mit wasserfreiem Magnesiumsulfat und Eindampfen im Vakuum.

$4\alpha, 8, 14$ -Trimethyl-18-nor- $5\alpha, 8\alpha, 9\beta, 13\alpha, 14\beta$ -pregn-17(20)-en-3 α -ol (**4**). 1,38 g Natriumhydrid-Suspension (52% in Mineralöl) wurden mit Pentan ölfrei gewaschen, getrocknet und mit 30 ml Dimethylsulfoxid bei 70° zur Reaktion gebracht. Die klare grüne Lösung wurde auf Zimmertemperatur gekühlt, unter Stickstoff mit einer Lösung von Äthyltriphenylphosphoniumjodid in 70 ml Dimethylsulfoxid versetzt und 30 Min. gerührt. 1,42 g des equilibrierten Gemischs von **2** und **3** [16], gelöst in 45 ml Dimethylsulfoxid, wurden dann schnell zugetropft und die Mischung 16 Std. unter Stickstoff auf 70° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde auf Eis gegossen und mit Hexan normal aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde mit Benzol als Fließmittel an hundertfacher Menge Silicagel chromatographiert, worauf 1,1 g dünnenschichtchromatographisch einheitliches **4** resultierte. – GC. des Trimethylsilyläthers auf Barber-Coleman 5000; Glaskolonne (Länge 4 m, Durchmesser 2,8 mm); stationäre Phase 4,6% XE 60 auf Gaschrom Q 80-100 mesh, Helium-Einlassdruck 3,4 atm; Temp. 210°. RT in Min.: 7,7 (47%), 8,3 (47%); Verunreinigungen: 6,25 (3%), 6,75 (3%). IR.-Spektrum (KBr): 3470 cm^{-1} (HO—). NMR.-Spektrum: 5,24 (m) >C=C<^{H} ; 3,74 (m) H-C-OH .

4 α ,8,14-Trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregn-17(20)-en-3-on (5). 2,08 g Alkohol **4** und 3,9 g N,N-Dicyclohexyl-carbodiimid wurden in 10 ml Dimethylsulfoxid, 20 ml Benzol und 0,5 ml Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 0,25 ml Trifluoressigsäure wurde 12 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurden 50 ml Äthylacetat zugegeben, der Rückstand abfiltriert, und das Filtrat mit Hexan normal aufgearbeitet. Nach Chromatographie des Rohproduktes an hundertfacher Menge Silicagel mit Benzol als Lösungsmittel wurden 1,84 g Keton **5** erhalten. – GC. auf F & M: Glaskolonnen (Länge 2 m, Durchmesser 2,8 mm); stationäre Phase 2,5% DEGS auf Gaschrom Q 80–100 mesh, Helium-Einlassdruck 3,4 atm; Temp. 220°. RT in Min.: 14,9 (45%), 17,1 (47%); Verunreinigungen 11,7 (5%), 12,9 (3%). IR.-Spektrum (CHCl₃): 1705 cm⁻¹ (C=O). NMR.-Spektrum: 5,25 (m) $\text{>C=C<}\begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$.

3 α ,3 β -Äthylendioxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregn-17(20)-en (6). 1,39 g Keton **5**, 70 mg *p*-Toluolsulfonsäure, 3 ml Äthylenglykol und 25 ml Benzol wurden 3 Std. unter kräftigem Rühren am Wasserabscheider erwärmt. Nach Abkühlen und normalem Aufarbeiten, resultierte ein Rohprodukt, welches nach Filtration mit Petroläther-Benzol durch 20-fache Menge Alox II n 1,423 g Gemisch von **6** und **7** lieferte. – GC.: Unter analogen Bedingungen wie für Gemisch **5** bei 210° bestimmt. RT in Min.: 11,8 (16%), 19,6 (40%), 22,2 (39%); Verunreinigungen 13,5 (3%), 14,8 (2%). IR.-Spektrum (CHCl₃): kein C=O. NMR.-Spektrum: 5,25 (m) $\text{>C=C<}\begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$; 3,91 (s) .

Hydroborierung von 3 α ,3 β -Äthylendioxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregn-17(20)-en (6). Diboran wurde nach Brown & Subba Rao [29] mit 0,6 g Natriumborhydrid in 30 ml Diglym und 5,0 g Bortrifluorid-ätherat erzeugt und während zwei Std. durch eine eisgekühlte Lösung von 1,035 g der Mischung von **6** und **7** in 50 ml absolutem Tetrahydrofuran geleitet. Anschliessend wurde eine weitere Std. bei 0° gerührt und dann das überschüssige Diboran durch vorsichtigen Zusatz von 2 ml Wasser zerstört. Unter Eiskühlung wurden 20 ml Natronlauge (10-proz.) und anschliessend 15 ml Wasserstoffsuperoxid (30-proz.) langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde eine weitere Std. bei 0° gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in Methylchlorid aufgenommen, mit Natriumhydrogensulfid (10-proz.) und anschliessend mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Eindampfen der Methylchloridlösung verblieben 1,067 g eines öligen Rohprodukts. Dieses wurde an 100 g gepuffertem Silicagel mit Äthylacetat-Benzol (15:100) als Lösungsmittel chromatographiert. Nach steigender Polarität wurden folgende Fraktionen gewonnen:

a) 3 α ,3 β -Äthylendioxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,14 β -pregn-13(17)-en (7): 167 mg. Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Äther-Methanol 96–97°. GC. (gleiche Bedingungen wie Gemisch **6**): RT in Min.: 11,8; entspricht erstem Pik von Gemisch **6**. $[\alpha]_D = -4,4^\circ$ ($c = 0,935$). NMR.-Spektrum: siehe Fig. 1. MS.: $m/e = 372$ (25%/M⁺), 343 (4%/M⁺-C₃H₅), 136 (100%).

C₂₅H₄₀O₂ Ber. C 80,59 H 10,82% Gef. C 80,61 H 10,98%

b) 468 mg einer Mischung von zwei Alkoholen, welche nach nochmaliger Chromatographie teilweise in die isomeren Alkohole **8a** und **8b** getrennt werden konnte.

3 α ,3 β -Äthylendioxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregnan-20 ξ -ol (**8a** und **8b**). – **8a**: Smp. nach fünfmaligem Umlösen aus Aceton-Petroläther 199°. $[\alpha]_D + 47,0^\circ$ ($c = 0,913$). IR.-

Spektrum (Nujol): 3430 cm⁻¹ (HO—). NMR.-Spektrum: 3,82 (m) $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$; 3,9 (s) .

C₂₅H₄₂O₃ Ber. C 76,87 H 10,84% Gef. C 76,74 H 11,10%

8b: Smp. nach fünfmaligem Umlösen aus Äther-Hexan 152–157°. $[\alpha]_D = +43,6^\circ$ ($c = 0,803$).

IR.-Spektrum (Nujol): 3430 cm⁻¹ (HO—). NMR.-Spektrum: 3,82 (m) $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$; 3,9 (s) .

C₂₅H₄₂O₃ Ber. C 76,87 H 10,84% Gef. C 76,70 H 11,19%

c) 384 mg einer Mischung die nicht getrennt werden konnte, und deren Zusammensetzung teilweise aus den nachstehenden Oxydationsdaten hervorgeht. 2,44 g dieser Alkoholmischung wurden mit 1,75 g Chromtrioxid in 12 ml Pyridin drei Tage unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Unter

Eiskühlung wurden dann 3 ml Methanol und nach einer Std. 15 ml Benzol beigelegt. Die Mischung wurde durch eine Glasnutsche filtriert und der Rückstand mit Benzol nachgewaschen. Nach normalem Aufarbeiten resultierten 1,6 g eines öligen Rohproduktes welches mit einer Mischung von Pyridin-Äther-Hexan (1:400:600) an hundertfacher Menge Silicagel chromatographiert wurde. Folgende reine Substanzen wurden eluiert: a) *3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β,17α-pregnan-20-on* (**10**) (470 mg). Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Äther-Methanol 142–144°. $[\alpha]_D + 4,4^\circ$ ($c = 1,0$). IR.-Spektrum (Nujol): 1700 cm^{-1} (C=O). NMR.-Spek-

trum: 2,2 (s) $-\text{COCH}_3$; 3,9 (s) .

$\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$ Ber. C 77,27 H 10,38% Gef. C 77,21 H 10,26%

b) *3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β-pregnan-17α-ol* (**15**) 360 mg). Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan 193–195°. $[\alpha]_D + 24,2^\circ$ ($c = 1,003$). IR.-Spektrum (Nujol): 3510 cm^{-1} (HO—). NMR.-Spektrum: Fehlen des Carbinolprotons bei 3,8. MS.: m/e 390 ($\ll 1\% M^+$), Rest des Spektrums praktisch identisch mit demjenigen von **7**.

$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_3$ Ber. C 76,87 H 10,84% Gef. C 76,91 H 11,03%

c) *4α,8,14-Trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β-pregnan-3,20-dion* (**14**) (290 mg). Smp. nach sechsmaligem Umlösen aus Aceton-Methanol 181–184°. $[\alpha]_D = +101^\circ$ ($c = 1,052$). IR.-Spektrum (CHCl_3): 1700 cm^{-1} (C=O). NMR.-Spektrum: 2,07 (s) CH_3-CO ; Methylsignale bei 1,07 (s), 1,01 (d, $J = 6$ Hz), 1,00 (s), 0,80 (s).

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_2$ Ber. C 80,18 H 10,54% Gef. C 79,80 H 10,24%

3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,14β-pregn-13(17)-en (**7**) aus tertiärem Alkohol **15**. 60 mg Alkohol **15** wurden in einer Mischung von 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Acetanhydrid drei Std. unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Eis versetzt und mit Äther normal aufgearbeitet. Es resultierten 57 mg eines Produktes, welches nach dreimaligem Umlösen aus Äther-Methanol bei 97–98° schmolz; Misch.-Smp. mit dem vorher beschriebenen **7** ohne Depression. Die IR.-Spektren der beiden Verbindungen in Nujol waren identisch.

3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β-pregnan-20-on (**9**) aus **8a**. 205 mg Alkohol **8a** wurden mit 300 mg Chromtrioxid in 3 ml Pyridin 24 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Unter Eiskühlung wurden dann 1 ml Methanol und nach einer Std. 15 ml Benzol beigelegt. Die Mischung wurde durch eine Glasnutsche filtriert. Nach normalem Aufarbeiten des Filtrates resultierten 200 mg eines kristallinen Rohproduktes. Dieses wurde mit Petroläther-Benzol (2:1) durch zwanzigfache Menge Alox II n filtriert. Smp. des Eluats nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan 185–186°. $[\alpha]_D + 59^\circ$ ($c = 0,785$). IR.-Spektrum (Nujol): 1700 cm^{-1} (C=O).

NMR.-Spektrum: 2,12 (s) CH_3-CO ; 3,90 (s) .

$\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$ Ber. C 77,27 H 10,38% Gef. C 77,00 H 10,42%

In gleicher Weise wurde **8b** oxydiert. Das Produkt erwies sich als identisch mit demjenigen aus **8a**. – In der Folge wurde **9** durch Oxydation der schwer trennbaren Mischung von **8a** und **8b** hergestellt.

3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β,17α-pregnan-20-on (**10**). 0,836 mg Keton **9** wurden mit 20 ml methanolischer Kalilauge (1 N) in Stickstoffatmosphäre gerührt. Die Isomerisierung wurde dünnstichtchromatographisch verfolgt und war nach einer Std. vollständig. Die Reaktionsmischung wurde dann in Äther aufgenommen und normal aufgearbeitet, worauf 830 mg reines **10** resultierten. Smp. nach zweimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan, 146–148°. $[\alpha]_D + 3^\circ$ ($c = 0,993$). IR.-Spektrum (Nujol): identisch mit demjenigen von auf anderem Wege erhaltenem **10**.

$\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$ Ber. C 77,27 H 10,38% Gef. C 77,58 H 10,43%

3α,3β-Äthylendioxy-4α,8,14-trimethyl-18-nor-5α,8α,9β,13α,14β-androstan-17α-yl-acetat (**11**). 100 mg des Ketons **10** und 60 mg *m*-Chlorperbenzoesäure wurden in 2 ml frisch destilliertem Methylenchlorid unter Feuchtigkeits- und Lichtausschluss 6 Tage gerührt. Dann wurde mit Methylenchlorid verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser extrahiert. Nach Trocknen und Eindampfen der organischen Phase resultierten 103 mg eines kristallinen

Rohproduktes, welches mit Äther-Hexan (3:7) an hundertfacher Menge Silicagel chromatographiert wurde. Nach dreimaligem Umlösen des Eluats aus Aceton-Hexan resultierten 60 mg reines Acetat **11** mit Smp. 192–193°. IR.-Spektrum (Nujol): 1700, 1245 cm^{-1} (OAc). NMR.-Spektrum:

4,8 (m) $\text{HC}-\text{OAc}$; 3,95 (s) , 2,2 (s) $-\text{CO}-\text{CH}_3$.

$\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_4$ Ber. C 74,21 H 9,97% Gef. C 74,11 H 10,00%

17 α -Hydroxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -androstan-3-on (**12**). 51 mg Acetat **11** wurden mit 1,5 ml Methanol, 0,25 ml Essigsäure und 0,25 ml Wasser eine Std. unter Rückfluss erwärmt. Anschliessend wurde in Äther aufgenommen und normal aufgearbeitet. Es resultierten 52 mg eines öligen Rohproduktes, welches mit 2 ml methanolischer Kalilauge (1 N) 20 Min. unter Rückfluss erwärmt wurde. Nach normalem Aufarbeiten mit Äther resultierten 46 mg eines Produktes, welches mit Äther-Hexan (1:1) an hundertfacher Menge Silicagel chromatographiert wurde. Nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan des Eluats resultierten 32 mg vom Smp. 170–172°.

NMR.-Spektrum: 0,81 (s), 1,0 (s), 1,13 (s) $-\text{C}-\text{CH}_3$ an C-8, C-14 und C-19; 0,82 (d, $J = 6$ Hz) $\text{HC}-\text{CH}_3$; 3,88 (m) $\text{HC}-\text{OH}$.

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_2$ Ber. C 79,19 H 10,76% Gef. C 79,09 H 10,88%

4 α ,8,14-Trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -androstan-3,17-dion (**13**). 32 mg Ketol **12**, 0,16 ml Dimethylsulfoxid, 0,64 ml Benzol, 0,008 ml Pyridin, 60 mg N,N-Dicyclohexyl-carbodiimid und 0,004 ml Trifluoressigsäure wurden 12 Std. bei Zimmertemperatur geführt. Anschliessend wurde mit Äthylacetat verdünnt, filtriert und der Rückstand mit Äthylacetat gewaschen. Das Filtrat wurde 10mal mit Wasser extrahiert, getrocknet und eingedampft. Nach Chromatographie auf 5 g Silicagel mit Äther-Hexan (1:1) als Lösungsmittel resultierten 25 mg reines **13**. Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Äther-Hexan 166–167°. IR.-Spektrum (KBr): 1730, 1700 cm^{-1} (C=O).

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$ Ber. C 79,70 H 10,19% Gef. C 79,56 H 10,38%

Authentisches **13**, hergestellt nach *Diassi et al.* [16], zeigte keine Depression des Misch-Smp. mit der Abbaubindung. Die IR.-Spektren der beiden Proben waren identisch.

4 α ,8,14-Trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β -pregnan-3,20-dion (**14**) aus **9**. 40 mg Ketol **9** wurden mit 1 ml Methanol, 0,15 ml Eisessig und 0,15 ml Wasser zwei Std. zum Rückfluss erhitzt. Das nach normalem Aufarbeiten mit Äther resultierende Rohprodukt wurde mit Benzol-Äthylacetat (95:5) an 10 g Silicagel chromatographiert. Smp. des Eluats nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan 181–183°. $[\alpha]_D = +98^\circ$ ($c = 0,925$). IR.-Spektrum (CHCl_3): identisch mit demjenigen des vorher auf anderem Wege erhaltenen **14**.

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_2$ Ber. C 80,18 H 10,53% Gef. C 79,97 H 10,40%

3 α ,3 β -Äthylendioxy-31-nor-protost-24-en-20(R)-ol (**16**). 490 mg 1-Brom-4-methyl-pent-3-en und 73 mg Magnesium wurden in 3 ml abs. Äther zur *Grignard*-Verbindung umgesetzt. Nach Zutropfen von 270 mg **10** in 5 ml abs. Tetrahydrofuran wurde 3 Std. zum Rückfluss erhitzt. Die überschüssige *Grignard*-Verbindung wurde dann mit gesättigter Ammoniumchloridlösung zerstört und das Reaktionsgemisch mit Äther auf übliche Art aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde an hundertfacher Menge gepuffertem Silicagel mit Benzol-Äthylacetat (95:5) chromatographiert. Es wurden eluiert:

a) 190 mg Titelverbindung **16**. Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Äthanol 103–106°. $[\alpha]_D = +12,4^\circ$ ($c = 0,707$). IR.-Spektrum (CHCl_3): 3610, 3530 cm^{-1} (HO—). NMR.-Spektrum:

5,16 (t, $J = 7$ Hz) $\text{H}_2\text{C}-\text{CH}=\langle$; 3,92 (s) , 1,73 (s), 1,66 (s) $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$.

$\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_3$ Ber. C 78,76 H 11,09% Gef. C 78,34 H 10,98%

b) 53 mg 3 α ,3 β -Äthylendioxy-4 α ,8,14-trimethyl-18-nor-5 α ,8 α ,9 β ,13 α ,14 β ,17 α -pregnan-20 ξ -ol (**17**). Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan 174–176°. $[\alpha]_D = +7,8$ ($c = 0,827$). IR.-

Spektrum (Nujol): 3500 cm^{-1} (HO—). NMR.-Spektrum: 3,93 (s) , 3,7 (m) HO—C—H.

$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_3$ Ber. C 76,87 H 10,84% Gef. C 76,43 H 10,91%

20(R)-Hydroxy-31-nor-protost-24-en-3-on (**18**). 324 mg Ketal **16** wurden mit 9 ml Methanol, 1,5 ml Eisessig und 1,5 ml Wasser zwei Std. zum Rückfluss erhitzt. Nach Aufnehmen in Äther und üblicher Aufarbeitung resultierten 335 mg eines Rohproduktes, welches an hundertfacher Menge Silicagel mit Benzol-Äthylacetat (9:1) chromatographiert wurde. Smp. des Eluats nach dreimaligem Umlösen aus Aceton-Hexan 90–93°. $[\alpha]_D = +46^\circ$ ($c = 0,851$). IR.-Spektrum (Nujol): 3500 cm^{-1} (HO—), 1700 cm^{-1} (C=O). MS.: $m/e = 428$ ($\ll 1\%/M^+$), 411 (3%/M⁺-OH), 410 (9%/M⁺-H₂O), 127 (15%/Seitenkette⁺), 109 (100%/Seitenkette⁺-H₂O).

$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$ Ber. C 81,25 H 11,29% Gef. C 81,32 H 11,46%

20(R)-Hydroxy-2ξ-methyl-31-nor-protost-24-en-3-on (**19**). 226 mg Keton **18** wurden in 10 ml trockenem Tetrahydrofuran mit 25 mg Natriumhydrid (53% in Mineralöl) versetzt, 0,56 ml frisch destilliertes Methyljodid beigelegt und unter trockenem Stickstoff 24 Std. bei 40° gerührt. Nach normalem Aufarbeiten mit Äther resultierten 230 mg eines Rohproduktes, welches mit Äther-Hexan (3:7) an 23 g Silicagel chromatographiert wurde. 85 mg einer Mischung von 2 schwer trennbaren Produkten wurden isoliert. Nach nochmaliger Chromatographie an 20 g Silicagel und fünfmaligem Umlösen aus Aceton-Hexan der an polarerem Produkt angereicherten Fraktionen konnte eine reine Verbindung mit Smp. 97–98° gewonnen werden. NMR.-Spektrum: siehe Fig. 2.

$\text{C}_{23}\text{H}_{50}\text{O}_2$ Ber. C 81,39 H 11,38% Gef. C 81,41 H 11,22%

Wurden 2 mg der Mischung mit 1 ml 1-proz. Kaliumhydroxidlösung in Methanol gerührt, so konnte im Dünnschichtchromatogramm (Fließmittel: Äther-Hexan 3:7) die Bildung des ursprünglichen Produktpaares beobachtet werden.

20(R)-Hydroxy-protost-24-en-3-on (**20**). – a) Hydroxymethylenverbindung von **18**: 118 mg Keton **18** wurden in 6 ml abs. Benzol und 0,1 ml Äthylformiat gelöst, 50 mg Natriumhydrid-Suspension (53% in Mineralöl) wurden beigelegt und die Mischung über Nacht unter Stickstoff gerührt. Überschüssiges Natriumhydrid wurde dann durch Zugabe von Wasser zerstört. Nach Zugabe von 1 g Natriumphosphat wurde mit Benzol normal aufgearbeitet und das Rohprodukt an 10 g Silicagel mit Benzol-Äthylacetat (100:2) chromatographiert. Es resultierten 104 mg reine Hydroxymethylenverbindung. NMR.-Spektrum: 5,15 (t, $J = 7$ Hz) $\text{CH}_2\text{—CH=CH—}$; 8,50 (s) >C=CHO— ; 14,83 (breites Signal) =COH.

b) Thiobutylverbindung: Eine Lösung von 104 mg obiger Hydroxymethylenverbindung in 7 ml Pyridin wurde auf -15° gekühlt. Nach Beigabe von 48 mg *p*-Toluolsulfonylchlorid wurde 3 Std. gerührt, dann mit 24 mg Butanthiol versetzt und über Nacht bei -15° belassen. Das Gemisch wurde mit 20 ml 1-proz. Natronlauge versetzt und 6mal mit Äther extrahiert. Nach Neutralwaschen, Trocknen und Eindampfen des Ätherauszugs resultierten 140 mg eines Rohproduktes, welches nach Chromatographie an 10 g Silicagel mit Benzol-Äthylacetat (100:7) 103 mg reine Thiobutylverbindung ergab. NMR.-Spektrum: 2,85 (t, $J = 7$) $\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—S—}$; 5,15 (m) $\text{>C=CH—CH}_2\text{—}$; 7,55 (m) >C=CH—S— .

c) Methylierung der Thiobutylverbindung und Hydrolyse zu 20(R)-Hydroxy-protost-24-en-3-on (**20**). 104 mg Thiobutylverbindung wurden in 1,5 ml einer 1,4 N Kalium-*t*-Amylat-Lösung gelöst. Die Mischung wurde dann 2 Std. bei 60° gerührt, worauf sie eine tiefrote Farbe angenommen hatte. Nach Kühlen auf 0° wurde 0,6 ml frisch destilliertes Methyljodid zugelegt und 1½ Std. zum Rückfluss erhitzt. Die Färbung war dann vollständig verschwunden. Nach normaler Aufarbeitung mit Äther resultierten 109 mg eines Rohproduktes, welches ohne weitere Reinigung der Hydrolyse unterworfen wurde. Das Rohprodukt wurde mit 0,2 ml Diäthylenglykol und 0,2 ml 25-proz. Kalilauge 14 Std. im zugeschmolzenen Rohr auf 220° erhitzt. Die Mischung wurde dann mit Äther normal aufgearbeitet, worauf 89 mg eines Rohproduktes resultierten, welches an 10 g Silicagel mit Hexan-Äther (3:2) chromatographiert wurde. Es wurden 40 mg des chromatographisch reinen öligen Ketons **20** erhalten. MS.: $m/e = 442$ ($\ll 1\%/M^+$), 427 (1%/M⁺-CH₃), 425 (3%/M⁺-OH), 424 (8%/M⁺-H₂O), 127 (19%/Seitenkette⁺), 109 (100%/Seitenkette⁺-H₂O).

3β, 20(R)-Dihydroxy-protost-24-en (**1a**). 40 mg des öligen Ketons **20** wurden in 2,2 ml Dimethoxyäthan und 0,75 ml Methanol gelöst. Portionenweise wurden dann 100 mg Natriumborhydrid beigelegt und die Mischung 1¼ Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Zugabe von gesättigter Ammoniumchloridlösung wurde mit Äther normal aufgearbeitet. Es resultierten 44 mg eines Rohproduktes, welches an 15 g Silicagel mit Äther-Hexan (1:1) chromatographiert wurde. 25 mg reines **1a** wurden durch zweimaliges Umlösen des Eluats aus Äther-Hexan gewonnen. Smp. 149–150°

$[\alpha]_D = +4^\circ$ ($c = 0.775$). IR.-Spektrum (KBr): 3460 cm^{-1} (HO—). NMR.-Spektrum: siehe Fig. 3. MS.: $m/e = 427$ (2%/M⁺-OH), 426 (6%/M⁺-H₂O), 127 (20%/Seitenkette⁺), 109 (100%/Seitenkette⁺-H₂O). C₃₀H₅₂O₂ Ber. C 81,02 H 11,79% Gef. C 81,29 H 11,94%

Die Autoren danken den Herren Profs. K. Wiesner, H. Favre, Drs. R. Deghenghi, D. Dvornik und J. Bagli für fruchtbare Diskussionen und wohlwollende Hilfe. Fräulein L. Stapelfeldt und Fräulein D. Coicou sei für die Geduld bei der mühsamen Herstellung des Ausgangsmaterials gedankt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Immer, *Tetrahedron Letters* 1969, 4725.
- [2] Tetsuyasu Hattori, Hidenoi Igarashi, Shigeo Iwasaki & Shigenobu Okuda, *Tetrahedron Letters* 1969, 1023.
- [3] A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger & D. Arigoni, *Helv.* 38, 1890 (1955).
- [4] K. Bloch, *Science* 150, 19 (1965).
- [5] I. D. Frantz, jr., & G. J. Schroepfer, jr., *Annu. Rev. Biochemistry* 36, 691 (1967).
- [6] R. B. Clayton, *Quart. Rev. chem. Soc. London* 19, 168 (1965).
- [7] E. J. Corey, W. E. Russey & P. R. Ortiz de Montellano, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 4750 (1966).
- [8] E. E. van Tamelen, J. D. Willett, R. B. Clayton & Kathryn E. Lord, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 4752 (1966).
- [9] T. T. Chen & K. Bloch, *J. biol. Chemistry* 226, 931 (1957).
- [10] J. H. Richards & J. B. Hendrickson, «The Biosynthesis of Steroids, Terpenes and Acetogenins», W. A. Benjamin, Inc., New York, N. Y., 1964.
- [11] W. O. Godtfredsen, W. von Daehne, S. Vangedal, A. Marquet, D. Arigoni & A. Melera, *Tetrahedron* 21, 3505 (1965).
- [12] S. Okuda, S. Iwasaki, M. J. Soir, Y. Machida, A. Inaue, K. Tsuda & Y. Nakayama, *Tetrahedron Letters* 1967, 2295.
- [13] T. G. Halsall, E. H. Jones, G. Lowe & C. E. Newall, *Chem. Commun.* 1966, 685.
- [14] a) E. J. Corey, Paul R. Ortiz de Montellano & Hisashi Yamamoto, *J. Amer. chem. Soc.* 90, 6254 (1968); b) E. J. Corey, Kang Lin & Hisashi Yamamoto, *ibid.* 91, 2134 (1969).
- [15] J. W. Cornforth, *Angew. Chem.* 80, 977 (1968).
- [16] P. A. Diassi, I. Basco, G. W. Krakower & H. Ann Van Dine, *Tetrahedron* 22, 3459 (1966).
- [17] Alan M. Krubiner & Eugene P. Oliveto, *J. org. Chemistry* 31, 24 (1966).
- [18] a) A. Mijares, D. I. Cargill, J. A. Glasel & S. Lieberman, *J. org. Chemistry* 32, 810 (1967); b) N. K. Chaudhuri, J. G. Williams, R. Nicholson & M. Gut, *ibid.* 34, 3759 (1969).
- [19] R. Greenwald, M. Chaykovsky & E. J. Corey, *J. org. Chemistry* 28, 1128 (1963).
- [20] A. H. Fenselau & J. G. Moffat, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 1762 (1966).
- [21] D. J. Cram & F. A. Abd Elhafez, *J. Amer. chem. Soc.* 74, 5828 (1952).
- [22] G. E. Dunn & J. Warkentin, *Canad. J. Chemistry* 34, 75 (1956).
- [23] R. E. Ireland & J. A. Marshall, *J. org. Chemistry* 27, 1615 (1962).
- [24] S. Julia, *Bull. Soc. chim. France* 1954, 780.
- [25] M. Julia, S. Julia & R. Guegan, *Bull. Soc. chim. France* 1960, 1074.
- [26] Nancy L. R. Bucher, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 498 (1953).
- [27] R. B. Clayton & K. Bloch, *J. biol. Chemistry* 218, 319 (1955).
- [28] L. Fieser, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 5421 (1953).
- [29] H. C. Brown & B. C. Subba Rao, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 6431 (1959).