Reduction of II with Lithium in Liquid Ammonia to Estradiol (XI)—To a solution of 140 mg. of Li in 30 ml. of liquid NH_3 cooled in a dry ice Me_2CO -bath was added a solution of 284 mg. of II in 12 ml. of tetrahydrofuran and 6 ml. of EtOH over a period of 10 min. and the mixture was further stirred for 15 min. at -70° . H_2O was added after evaporation of NH_3 and the product was extracted with Et_2O . The residue obtained on evaporation of the solvent was recrystallized from MeOH to give estradiol, m.p. $176\sim 177^\circ$, which on acetylation gave diacetate, m.p. $127\sim 128^\circ$. Both compounds showed no melting point depression when mixed with authentic specimens of natural estradiol and its diacetate.

The authors are indebted to Dr. S. Akagi, of Sankyo Co., Ltd. for his helpful discussion and to Misses H. Yamanouchi and K. Hayashi for elemental analyses and to Misses N. Satō, N. Tōhata and K. Arimoto for infrared spectra measurements.

Summary

Reduction of the Δ^8 -double bond in 3,11 β -dihydroxyestra-1,3,5(10),8-tetraen-17-one (II) was carried out. Catalytic hydrogenation of II occurred from rear side and afforded the compound having 8 α ,9 α -configuration, which was assigned in consideration of its resistance to acetylation and by leading to 9(11)-dehydro-8-isoestrone methyl ether, whereas reduction of II with lithium in liquid ammonia afforded estradiol.

(Received June 14, 1963)

[Chem. Pharm. Bull.
11 (10) 1275 ~ 1282]

UDC 547.92.02 : 577.176.52

205. Hiroko Hasegawa, Yoshihiro Sato, und Kyosuke Tsuda : Untersuchungen über Steroide. XLVI.¹⁾ Über die vier Isomere des zum Progesteron gehörigen 14,15-Diols.*¹

(Institut für angewandte Mikrobiologie der Universität Tokio*²⁾)

Bei der Behandlung des Pregna-4,14-dien-3,20-dions (I)³⁾ mit Benzopersäure ergab sich ein Epoxid, dem auf Grund der folgenden Versuche die Formel (II) mit 14 α ,15 α -Epoxygruppe zukommen : durch reduktive Ringaufspaltung der Epoxygruppe mit Lithiumaluminiumhydrid*³ und anschließende Oxydation der neugebildeten sekundären Alkoholgruppen mit Chromtrioxid in Pyridin entstand ein Hydroxyprogesteron vom Schmelzpunkt $190\sim 195^\circ$, das sich nach Infrarot Spektrum und dem Misch-Schmelzpunkt als identisch mit dem bekannten 14-Hydroxypregn-4-en-3,20-dion (III)*⁴ erwies.

Bei Umsetzung des Epoxids (II) mit Perchlorsäure in Aceton ergab sich ein Rohprodukt, aus dem sich durch Umkristallisieren und darauffolgendem Chromatographieren drei kristalline Stoffe isolieren ließen. Nach Infrarot Spektrum und der Elementaranalysen

*¹ Die Zusammenfassung dieser Arbeit ist bereits als Communication veröffentlicht worden; dieses Bull., 9, 409 (1961).

*² Yayoicho, Bunkyo, Tokyo (長谷川弘子, 佐藤良博, 津田恭介).

*³ Bei der Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion einer Epoxygruppe der tertiären und sekundären Kohlenstoffatomen ergibt sich im allgemeinen ein tertiäres Alkohol, vgl. R.E. Parker, N.S. Isaacs, Chem. Review, 59, 739 (1959); A.S. Hallsworth, H.B. Henbest, J. Chem. Soc., 1957, 4607.

*⁴ Wir danken Herrn Dr. K. Tanabe, Takamine Laboratorium, hier bestens für die Überlassung des genannten Präparates, vgl. K. Tanabe, R. Hayashi, R. Takasaki, M. Shirasaka : Dieses Bulletin, 7, 811 (1959).

1) XLV Mitteil. : Dieses Bulletin, im Drucke (1963).

2) H. Hasegawa, Y. Sato, T. Tanaka, K. Tsuda : *Ibid.*, 9, 740 (1961).

wurde bewiesen, daß sie die isomeren Dihydroxyprogesterone darstellen. Sie lassen sich als Glykol-a, -b und -c bezeichnen. Bei hydrolytischer Ringaufspaltung einer Epoxygruppe bildet sich im allgemeinen ein *trans*-diachiales Glykol.³⁾ Daraus ersieht man, daß die obengenannten isomeren Diole je eine 14,15-*trans*-Glykolgruppierung besitzen.

Glykol-a vom Schmelzpunkt 203~208° stellte das Hauptprodukt dar. Die Ausbeute betrug 49 proz. Bei Behandlung mit methanolischer Kalilauge umlagerte es sich in mäßiger Ausbeute in das isomere Glykol-c vom Schmelzpunkt 243~249°, das sich bei der oben erwähnten Hydrolyse des Epoxids (II) in spurer Menge gewinnen ließ. Die Ausbeute des Glykols-b vom Schmelzpunkt 259~263° betrug 4 proz. Dieser Stoff erwies sich nach Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt und Infrarot Spektrum als identisch mit dem 14,15-Dihydroxyprogesteron, das sich von uns⁴⁾ durch mikrobiologische Umsetzung des Progesterons mittels *Helminthosporium sativum* gewinnen lassen hat.

Bei Umsetzung des 14-Ens (I) mit Osmiumtetroxid in Äther und anschließender Umkristallisation des Rohproduktes wurden zwei isomere 14,15-*cis*-Diole,^{*5} nämlich Glykol-d vom Schmelzpunkt 187~189° und Glykol-e vom Schmelzpunkt 201~203°, in einer Ausbeute von 54 proz. und 15 proz. gewonnen.

Durch Chromtrioxid-Oxydation des Glykols-a sowie des Glykols-d^{*6} entstand dasselbe Ketol vom Schmelzpunkt 225~228°, das auch durch Oxydation des 14 α ,15 α -Epoxids (II) erhalten wurde. Im Infrarot Spektrum zeigte es neben der Bande einer Hydroxylgruppe an C-14 noch eine Bande des Fünfringketons an C-15 bei 1748 cm⁻¹.

Damit ist bewiesen, daß die Hydroxylgruppen an C-14 dieser beiden Glykole die gleiche Konfiguration besitzen. Bei analoger Oxydation des Glykols-b sowie des Glykols-e^{*6} ergab sich auch ein einziges Ketol vom Schmelzpunkt 241~245°, so daß diese beiden Glykole betreffs der Konfiguration des Hydroxylgruppes an der Stellung 14 gleich sind.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ist ersichtlich, daß die beiden Ketole die an C-14 epimeren 14-Hydroxy-15-oxoprogesterone darstellen. Um den räumlichen Bau des 14-Stellung dieser Ketole kennen zu lernen, haben wir die beiden Ketole mit methanolischer Kalilauge erhitzt. Dabei veränderte sich nur das Ketol vom Schmelzpunkt 225~228°, indem sich daraus ein neues isomeres Ketol vom Schmelzpunkt 220~221° bildete. Das letztere ließ sich auch aus Glykol-c durch Chromtrioxid-Oxydation gewinnen.

Es ist bekannt, daß sich der 17 β -Acetylrest bzw. 17 β -Carboxylrest des 14 β -Steroids durch Einwirkung von Alkalilauge leicht in das 17 α -Isomere umlagert.⁵⁾ Daraus folgt, daß dem oben genannten Ketol vom Schmelzpunkt 225~228° die Formel mit 14 β -Konfiguration, nämlich 14 β -Hydroxypregn-4-en-3,15,20-trion (IX), zukommen soll. Dementsprechend sollen Glykol-a und Glykol-d die Formeln von IV (14 β ,15 α -Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion) und VII (14 β ,15 β -Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion) besitzen. Bei dem Glykol-c handelt es sich um ein 17-Isomeres des IV, bei dem Ketol vom Schmelzpunkt

*⁵ Bei Osmiumtetroxid-Oxydation einer Doppelbindung entsteht stets ein *cis*-Diol, vgl. R. Criegee. Ann., 522, 75 (1936).

*⁶ Bei dieser Oxydation gaben alle Glykole als gemeinsames Nebenprodukt einen kristallinen Stoff von C₂₁H₂₈O₅ (X). Die Molekularformel stimmt mit der durch Glykolspaltung gebildeten Ketokarbonsäure gut überein. IR-Spektrum zeigt aber keine Carbonyl-Absorption, sondern γ -Lakton-Absorption bei 1780 cm⁻¹, Hydroxyl-Absorption bei 3380 cm⁻¹ und Monoenon-Absorption bei 1663 sowie 1620 cm⁻¹. Analoges Produkt wurde bei Chromtrioxid-Oxydation von 7 β ,14 α ,15 β -Trihydroxyprogesteron-7-acetat erhalten, vgl. K. Tsuda, T. Asai, E. Ohki, T. Tanaka, T. Matsuhisa: Dieses Bulletin, 7, 369 (1959).

3) R. E. Parker, N. S. Isaacs: Chem. Rev., 59, 739 (1959).

4) K. Tsuda, T. Asai, Y. Sato, T. Tanaka, H. Hasegawa: Dieses Bulletin, 9, 735 (1961).

5) A. Lardon: Helv. Chim. Acta, 32, 1517 (1949); K. Meyer: Ibid., 30, 1976 (1947); J. Fried, R. W. Thoma, D. Pearlman, J. E. Herz, A. Borman: Recent Progress in Hormon Research, 11, 149 (1955); K. Tsuda, T. Asai, E. Ohki, A. Tanaka, M. Hattori: Dieses Bulletin, 6, 387 (1958); A. Lardon, T. Reichstein: Helv. Chim. Acta 41, 904 (1958); A. Lardon, H. P. Sigg, T. Reichstein: Ibid., 42, 1457 (1959); H. Linde, K. Meyer: Ibid., 42, 807 (1959).

220~221° um ein 17-Isomeres des IX; dementsprechend sollen ihnen die Formeln (VI) (17-*iso*-14 β ,15 α -Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion) und XII (17-*iso*-14 β -Hydroxypregn-4-en-3,15,20-trion) zukommen.

Glykol-b, -e und Ketol vom Schmelzpunkt 241~245° lassen sich also in die 14 α -Reihe bringen, so daß ihnen die Formeln (V) (14 α ,15 β -Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion*), VIII (14 α ,15 α -Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion) und XI (14 α -Hydroxypregn-4-en-3,15,20-trion) zukommen.

Durch Einwirkung von Osmiumtetroxid auf 2- bzw. 3-⁶⁾ sowie 5-⁷⁾ bzw. 6-En-5 α -Steroid⁸⁾ lassen sich stets die *cis*-Diole mit α -Konfiguration gewinnen. In Hinsicht darauf ist es von Interesse, daß bei 14-En die Ausbildung des β -*cis*-Diols bevorzugt ist.*⁸

Mit Phosphoroxychlorid in Pyridin entstand aus V das 14 α ,15 α -Epoxid (II). In analoger Weise ließ sich IV in das 14 β ,15 β -Epoxid (XIII) vom Schmelzpunkt 189~191° überführen, dessen Struktur aus der Analyse, dem Infrarot Spektrum und den untenstehenden chemischen Verhältnissen folgte. Hydrolytische Ringaufspaltung des α -Epoxids (II), wie oben erwähnt, gibt als Hauptprodukt das *trans*-Diol (IV). Daneben entstehen V und VI in schlechter Ausbeute; das letztere aber stellt ein aus IV unter Umkehrung des 17-Acetylrestes entstandenes Isomeres dar. Es ist deshalb verständlich, daß bei Ringöffnung des 14 α ,15 α -Epoxids die Substitutionsreaktion an C-14 durch Hydroxy-Anion bevorzugt ist. Denselben Verlauf nahm die Ringöffnung des Epoxids (II) mittels Chlorwasserstoff. Bei Behandlung des α -Epoxids (II) mit Chlorwasserstoff in Chloroform ließ sich die Ringöffnung zu 14 β -Chlor-15 α -hydroxy Derivat (XIV) erreichen,*⁹ nämlich durch nucleophile Substitutionsreaktion an C-14 mit Chlor-Anion. Die Struktur dieses Chlorhydrins ließ sich durch Oxydierung zu 14 β -Chlor-15-Keton (XV) feststellen.

Hingegen gab die Hydrolyse des β -Epoxids (XIII) mit demselben Reagens neben beiden oben genannten *trans*-Diole, IV und V, noch ein *cis*-Diol, nämlich das VII. Die Ausbeuten der allen Diole waren schlecht, d. h. unter 10 proz.

Die molaren Drehwerte und deren Differenzen für die isomeren 14,15-Diole sowie die verwandten Steroide sind in der Tabelle zusammengestellt. Vergleicht man zunächst Isomerenpaare, die sich durch die räumliche Anordnung des Hydroxyls an C-15 unterscheiden, so erweist sich ohne Rücksicht auf die Konfiguration des 14-Stellungs die β -Konfiguration mit einem negativen, die α -Konfiguration mit einem positiven Drehungsbeitrag verbunden. In der Tabelle sind weiter 14 β -Progesterone sowie ihre 17-Epimeren einander gegenübergestellt, an denen der Linksbeitrag des 17 α -Acetyls erkennbar ist.*¹⁰

Gegen Perjodat waren die allen 14,15-Diole bei Zimmertemperatur verhältnismäßig beständig. Bei 45-stündiger Einwirkung von Perjodat auf *trans*-Diol (IV) ließ sich kein

*⁷ Dieses 14 α ,15 β -Diol hat sich mit einem mikrobiologischen Umwandlungsprodukt des Progesterons identifizieren lassen. Damit ist bewiesen, daß bei Oxygenierungsreaktion des 14-Wasserstoffatoms keine Umkehrung der ursprünglichen Raumkonfiguration stattfindet. Dieses Resultat steht mit den früheren Beschreibungen der verschiedenen Autoren im Einklang, vgl. M. Hayano, M. Gut, R. I. Dorfman, O. K. Sebek, D. H. Peterson: J. Am. Chem. Soc., **80**, 2336 (1958), E. J. Corey, G. A. Gregoriou, D. H. Peterson: J. Am. Chem. Soc., **80**, 2338 (1953).

*⁸ Osmiumtetroxid-Oxydation des Zum Anthrasteroid gehörigen 14-Ens gibt 14,15- α -*cis*-Diol, vgl. J. A. Steele, L. A. Cohen, E. Mosettig: J. Am. Chem. Soc., **85**, 1134 (1963).

*⁹ 3 β -Acetoxy-14 α ,15 α -epoxyäthylsäuremethylester ließ sich in gleicher Weise vornehmlich in 14 β ,15 α -Derivat überführen; bei analoger Reaktion von 14 α ,15 α -Epoxy-17,21-dihydroxy-pregn-4-en-3,20-dion-21-acetat hingegen entstand als Hauptprodukt das 14 α ,15 β -Derivat, vgl. A. Lardon, H. Sigg, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta, **42**, 1457 (1959), B. M. Bloom, E. J. Angello, G. D. Laubach: Experimentia, **12**, 27 (1956).

*¹⁰ Über den negativen Drehungsbeitrag der 17 α -Substituenten, siehe auch, L. F. Fieser, M. Fieser: "Steroids" 566 (1959), Reinhold, New York.

6) J. Potaki, C. Rosenkranz, C. Djerassi: J. Am. Chem. Soc., **73**, 5373 (1951).

7) C. Djerassi, J. Fishman: *Ibid.*, **77**, 4291 (1955); K. Yamasaki, V. Rosnati, M. Fieser, L. F. Fieser: *Ibid.*, **77**, 3308 (1955).

8) V. Prelog, E. Tagmann: Helv. Chim. Acta, **27**, 1867 (1944).

9) S. J. Angyl, R. J. Young: J. Am. Chem. Soc., **81**, 5251 (1959).

TABELLE I. Molare Drehwerte und deren Differenzen bei 14,15-Diolen

Progesteron- bzw. 14 β -Progesteron Derivate	Formel bzw. Bezeichnung	Molare Drehwert $M_D^{a)}$	Differenz ΔM_D
Progesteron	a	+637 ^{b)}	—
15 β -Hydroxy-	b	+492 ^{c)}	-145 (b - a)
15 α -Hydroxy-	c	+703 ^{c)}	+ 66 (c - a)
14 α -Hydroxy-	III	+650 ^{d)}	—
15 β ,14 α -Hydroxy-	V	+470	-180 (V - III)
15 α ,14 α -Hydroxy-	VIII	+745	+ 95 (VIII - III)
14 β -Hydroxy-	d	+446 ^{b)}	—
15 β ,14 β -Dihydroxy-	VII	+367	- 79 (VII - d)
15 α ,14 β -Dihydroxy-	IV	+564	+118 (IV - d)
17 α -14 β -Hydroxy-	e	+168 ^{b)}	-278 (e - d)
17 α -14 β ,15 α -Dihydroxy-	VI	+252	-312 (VI - IV)
14 β -Hydroxy-15-oxo-	IX	+670	—
17 α -14 β -Hydroxy-15-oxo-	XII	+ 67	-603 (XII - IX)

a) Als Lösungsmittel wurde Chloroform benutzt, abgesehen von V (Methanol).

b) A. Lardon : *Helv. Chim. Acta*, **32**, 1517 (1949).c) H. Hasegawa, Y. Sato, T. Tanaka, K. Tsuda : *Dieses Bulletin*, **9**, 740 (1961).d) K. Tanabe, R. Hayashi, T. Takasaki, M. Shirasaka : *Ibid.*, **7**, 811 (1959).

Verbrauch an Perjodat feststellen.*¹¹ Das *cis*-Diol (VIII) war das unbeständigste unter den vier Isomeren. Nach 45 Stunden betrug der Verbrauch an Perjodat ca. 50 proz. der theoretischen Menge für Glykolspaltung.

Experimentelles*¹²

14,15 α -Epoxy pregn-4-en-3,20-dion (II)—1) Aus Pregna-4,14-dien-3,20-dion (I): eine Lösung von 3 g (I) in 15 ml CHCl_3 wurde mit einer Lösung von 1.499 g Benzopersäure in 27.5 ml CHCl_3 versetzt und 3 Std. bei Zimmertemperatur in Dunkelkammer stengelassen. Die Lösung wurde mit 5% NaOH und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde aus Et_2O umkristallisiert; Kristallit vom Schmp. 186~190°; Ausbeute, 2.190 g. $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ —Ber.: C, 76.79; H, 8.59. Gef.: C, 76.85; H, 8.62. $[\alpha]_D^{25} +181$ ($c=1.084$, CHCl_3). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 239.3 m μ (ϵ 18500). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1707 (20-CO); 1667 (3-CO); 1618 (4-en); 3025 (15-H in CS_2).

2) Aus 14,15 β -Dihydroxy pregn-4-en-3,20-dion (V) mittels POCl_3 : einer Lösung von 200 mg (V) in 8 ml Pyridin wurden 1.6 ml POCl_3 in der Kälte zugetropft und das Reaktionsgemisch 16 Std. bei -7° stengelassen. Hierauf wurde mit Eiswasser versetzt und mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die CHCl_3 -Auszüge mit verd. HCl, NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 154 mg Rohprodukt. Dieses wurde an 6 g Silikagel chromatographiert. Die mit Benzol- Et_2O (99:1~4:1) eluierten Fraktionen gaben nach Umkristallisation aus Et_2O 102 mg Kristalle vom Schmp. 186~189°. $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ —Ber.: C, 76.79; H, 8.58. Gef.: C, 77.01; H, 8.48. $[\alpha]_D^{12} +177$ ($c=0.656$, CHCl_3). Dieses Produkt war mit dem oben beschriebenen Epoxid (II) identisch.

3) Aus V mittels $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$: 150 mg (V) wurden mit 0.35 ml $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, 8 ml Dimethylformamid und 6 ml Pyridin 2.5 Std. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Zugabe von Eiswasser wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die Auszüge mit verd. HCl, NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 133 mg Rohprodukt. Dieses wurde an 10 g Silikagel chromatographiert. Die mit CH_2Cl_2 eluierten Fraktionen gaben aus Et_2O 14 mg Kristalle vom Schmp. 185~190°, die sich nach allen Daten als identisch mit II erwiesen.

14-Hydroxy pregn-4-en-3,20-dion (III)—Eine Lösung von 150 mg (II) in 10 ml Tetrahydrofuran wurde mit einer Lösung von 150 mg LiAlH_4 in 45 ml Tetrahydrofuran versetzt und 20 Std. unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernen des Tetrahydrofurans im Vakuum wurde mit Me_2CO und 5% HCl versetzt, mit CHCl_3 ausgeschüttelt und die Auszüge mit NaHCO_3 und H_2O gewaschen. Nach Entfernen von CHCl_3 wurde das ölige Produkt (146 mg) in 3 ml Pyridin gelöst, mit einer Lösung von 210 mg CrO_3 in 2 ml Pyridin versetzt und über Nacht stengelassen. Nach Zugabe von Eiswasser wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die Auszüge mit verd. HCl, NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde an 3 g Silikagel chromatographiert. Die mit Benzol- Et_2O (9:1) eluierten Fraktionen gaben aus Et_2O Kristalle, die nochmals durch Chromatographieren an Silikagel und darauffolgendes Umkristallisieren aus Et_2O gereinigt wurden. Es resultierten 6 mg Prismen vom Schmp. 190~195°. Sie erwiesen sich nach allen Daten als identisch mit dem bekannten 3,20-Dioxo-14-hydroxy pregn-4-en (III).*⁴

14,15 α -Dihydroxy-14 β -pregn-4-en-3,20-dion (IV), 14,15 β -Dihydroxy pregn-4-en-3,20-dion (V) und 14,15 α -Dihydroxy-14 β ,17 α -pregn-4-en-3,20-dion (VI)—Eine Lösung von 470 mg (II) in 23 ml Me_2CO wurde mit einer Lösung von 2.3 ml N HClO_4 in 4.6 ml H_2O versetzt und 10 Tage stengelassen. Nach Zugabe von Eiswasser wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die Auszüge mit NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 475 mg Rohprodukt. Nach Umkristallisieren aus Me_2CO - Et_2O ergaben sich Blättchen vom Schmp. 200~208° (110 mg). Die Mutterlauge wurde eingedampft und der erhaltene Rückstand (336 mg) an 10 g Silikagel chromatographiert. Die mit Benzol- Et_2O (4:1~3:1) eluierten Fraktionen gaben aus Et_2O 132 mg Kristalle vom Schmp. 199~208°. Die letzten Kristalle wurden zusammen mit den ersten Kristallen aus Et_2O nochmals umkristallisiert. Es resultierte reines IV vom Schmp. 203~208°. $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ —Ber.: C, 72.80; H, 8.73. Gef.: C, 72.59; H, 8.66. $[\alpha]_D^{15} +163^\circ$ ($c=0.994$, CHCl_3). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 241.2 m μ (ϵ 17600). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3600, 3440 (OH); 1697 (20-CO); 1657~1670 (3-CO); 1615 (4-en).

Die mit Benzol- Et_2O (3:1) eluierten Fraktionen (40 mg) lieferten aus Me_2CO 16 mg Blättchen vom Schmp. 243~249°. Sie erwiesen sich als identisch mit dem unten beschriebenen 14,15 α -Dihydroxy-14 β ,17 α -pregn-4-en-3,20-dion (VI).

Die mit Benzol- Et_2O (3:2) eluierten Fraktionen (30 mg) ergaben aus Me_2CO Prismen vom Schmp. 259~263°. $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ —Ber.: C, 72.80; H, 8.73. Gef.: C, 72.71; H, 8.68. $[\alpha]_D^{30} +136^\circ$ ($c=0.500$, MeOH). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 240.7 m μ (ϵ 17300). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3360 (OH); 1703 (20-CO); 1670 (3-CO); 1615 (4-en). Dieser Stoff stellte V dar.

*¹¹ 3 β -Acetoxy-14 β ,15 α -dihydroxy-5 β -ätiansäuremethylester ist auch gegen Perjodat völlig beständig, vgl. A. Lardon, T. Reichstein: *Helv. Chim. Acta*, **45**, 943 (1962).

*¹² Die Schmp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und nicht korrigiert.

14,15 β -Dihydroxy-14 β -pregn-4-en-3,20-dion (VII) und 14,15 α -Pregn-4-en-3,20-dion (VIII)—Eine Lösung von 300 mg (I) in 60 ml Et₂O wurde mit einer Lösung von 275 mg OsO₄ in 5 ml Et₂O versetzt und 7 Tage in der Dunkelkammer stehengelassen. Hierauf wurde die entstandenen Niederschläge mit 1.8 g D-Mannit, 18 ml 1% KOH und 9 ml CHCl₃ versetzt und 24 Std. bei Zimmertemperatur umgerührt. Nach Waschen mit H₂O wurde die Lösung über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 312 mg Kristalline, die nach Umkristallisieren aus Et₂O bei 187~189° schmolzen. C₂₁H₃₀O₄—Ber.: C, 72.80; H, 8.73. Gef.: C, 72.59; H, 8.75. $[\alpha]_D^{13} + 106^\circ$ (c=1.296, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 240.1 m μ (ϵ 17000). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3525, 3340 (OH); 1694 (20-CO); 1667 (3-CO); 1618 (4-en). Bei diesem Stoff handelte es sich um 14,15 β -Dihydroxy-14 β -pregn-4-en-3,20-dion (VII).

Aus der Mutterlauge ließ sich durch Umkristallisieren aus Et₂O neben VII (50 mg) noch ein Produkt isolieren. Es schmolz bei 201~203° und stellte 14,15 α -Pregn-4-en-3,20-dion (VIII) dar. Die Ausbeute betrug 34 mg. C₂₁H₃₀O₄—Ber.: C, 72.80; H, 8.73. Gef.: C, 72.62; H, 8.67. $[\alpha]_D^{14} + 215^\circ$ (c=0.839, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 241.2 m μ (ϵ 17300). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3610, 3530, 3430 (OH); 1698 (20-CO); 1667 (3-CO); 1616 (4-en).

14-Hydroxy-14 β -pregn-4-en-3,15,20-trion (IX)—1) Aus IV: eine Lösung von 46 mg (IV) in 5 ml Me₂CO wurde mit 0.08 ml Kiliani-Lösung*¹³ versetzt. Hierauf wurde mit NaHCO₃ alkalisiert, mit H₂O versetzt und mit Et₂O ausgeschüttelt. Die Auszüge ergaben aus Et₂O 17 mg Blättchen vom Schmp. 224~227°. C₂₁H₂₈O₄—Ber.: C, 73.22; H, 8.19. Gef.: C, 73.09; H, 8.18. $[\alpha]_D^{15} + 204^\circ$ (c=0.800, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 240.1 m μ (ϵ 15200). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3505, 3345 (OH); 1748 (15-CO); 1695 (20-CO); 1663 (3-CO); 1616 (4-en).

2) Aus VII zu einer Lösung von 62 mg (VII) in 3 ml Me₂CO wurden 0.12 ml Kiliani-Lösung getropft. Hierauf wurde die Lösung mit NaHCO₃ alkalisch gemacht und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die Auszüge ergaben nach üblicher Aufarbeitung 48 mg Kristalle, die sich an 2 g Silikagel chromatographieren ließen. Die mit Benzol-Et₂O (19:1) eluierten Fraktionen (17 mg) ergaben aus Et₂O 7 mg Kristalle vom Schmp. 225~228°. Dieses war mit dem aus IV gewonnenen IX identisch. Die alkalische wäßrige Lösung wurde mit 5% HCl angesäuert und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die Auszüge ergaben nach üblicher Aufarbeitung 9 mg (X), welches, wie unten erwähnt, auch bei CrO₃-Oxydation von V entstand.

3) Aus II: 35 mg (II) wurden in 5 ml 80% AcOH gelöst, mit 8 mg CrO₃ versetzt und 20 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung ergab 27 mg (IX).

14-Hydroxypregn-4-en-3,15,20-trion (XI)—1) Aus V: eine Lösung von 100 mg (V) in 10 ml AcOH wurde mit einer Lösung von 21 mg CrO₃ in 3 ml AcOH (mit einigen Tropfen H₂O) versetzt und 24 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Zugabe von Wasser wurde mit CHCl₃ ausgeschüttelt, die Auszüge mit NaHCO₃ und H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 88 mg Kristalle. Umkristallisieren aus Me₂CO lieferte Prismen vom Schmp. 241~245°. C₂₁H₂₈O₄—Ber.: C, 73.22; H, 8.19. Gef.: C, 72.90; H, 8.05. $[\alpha]_D^{10} + 236^\circ$ (c=0.297, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 240.2 m μ (ϵ 16300). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3530 (OH); 1738 (15-CO); 1701 (20-CO); 1671 (3-CO); 1618 (4-en).

2) Aus VIII: 14 mg (VIII) wurden in 1.5 ml Me₂CO gelöst und mit 0.03 ml Kiliani-Lösung versetzt. Die übliche Aufarbeitung lieferte 9 mg Rohprodukt. Es wurde an 0.5 g Silikagel chromatographiert und die mit Benzol-Et₂O (19:1) eluierte Fraktion aus Et₂O umkristallisiert. Schmp. 241~245°. Dieses Produkt war mit XI identisch.

Lakton X—Eine Lösung von 90 mg (V) in 9 ml AcOH wurde mit 39 mg CrO₃ und einigen Tropfen H₂O versetzt und 15 Std. stehengelassen. Nach Zugabe von Wasser wurde mit NaHCO₃ alkalisch gemacht und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die Auszüge lieferten 13 mg (XI). Die wäßrige Lösung wurde mit verd. HCl angesäuert und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Diese Auszüge lieferten 61 mg Kristalle. Umkristallisieren aus Et₂O ergab Nadeln vom Schmp. 122~127° (nicht scharf). C₂₁H₂₈O₅—Ber.: C, 69.97; H, 7.83. Gef.: C, 69.64; H, 7.81. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3380 (OH); 1780 (γ -Lakton); 1663 (3-CO); 1620 (4-en).

14,15 α -Dihydroxy-14 β ,17 α -pregn-4-en-3,20-dion (VI)—200 mg (IV) wurden in 15 ml. 0.4% methanolischer Kalilauge gelöst und 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Hierauf wurde mit N AcOH neutralisiert und im Vakuum eingedampft. Nach Zugabe von Wasser wurden die ausgeschiedenen Niederschläge abfiltriert und aus Me₂CO umkristallisiert. Ausbeute, 86 mg. Bei nochmaliger Umkristallisation aus Me₂CO ergaben sich Blättchen vom Schmp. 243~249°. C₂₁H₃₀O₄—Ber.: C, 72.80; H, 8.73. Gef.: C, 73.00; H, 8.69. $[\alpha]_D^{23} + 73^\circ$ (c=0.410, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 241.7 m μ (ϵ 18000). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3545, 3390 (OH); 1697 (20-CO); 1670 (3-CO); 1607 (4-en).

14-Hydroxy-14 β ,17 α -pregn-4-en-3,15,20-trion (XII)—1) Aus VI: zu einer Lösung von 52 mg (VI) in 10 ml Me₂CO wurden 0.14 ml Kiliani-Lösung getropft. Hierauf wurde mit NaHCO₃ alkalisch gemacht, mit H₂O versetzt und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die Auszüge lieferten nach üblicher Aufarbeitung 45 mg kristallinen Produktes. Umkristallisieren aus Et₂O ergab Prismen vom Schmp. 220~221°. C₂₁H₂₈O₄—Ber.: C, 73.22; H, 8.19. Gef.: C, 73.25; H, 8.15. $[\alpha]_D^{24} + 33^\circ$ (c=1.041, CHCl₃). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 239.8

*¹³ Eine Lösung von 53 g CrO₃ und 80 g H₂SO₄ in 400 ml H₂O, vgl. H. Kiliani: Ber., 46, 676 (1913).

m_{μ} (ϵ 17600). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3635, 3580, 3420 (OH); 1750 (15-CO); 1710 (20-CO); 1667 (3-CO); 1620 (4-en).

2) Aus IX: 20 mg (IX) wurden mit 0.2% MeOH-KOH 2.5 Std. unter Rückfluß gekocht, mit Eiswasser versetzt und CHCl_3 ausgeschüttelt. Hierauf wurden die Auszüge mit H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 20 mg Kristallinat. Umkristallisieren aus Et_2O ergab 10 mg Kristalle vom Schmp. $218\sim 221^\circ$, die sich nach allen Daten als identisch mit dem oben genannten XII erwiesen.

14 β ,15 β -Epoxy-pregn-4-en-3,20-dion (XIII)—Zu einer Lösung von 350 mg (IV) in 7 ml Pyridin wurden 1.4 ml POCl_3 in der Kälte gegeben und 15 Std. bei -7° stengelassen. Nach Zugabe von Eiswasser wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die Auszüge mit verd. HCl , NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 270 mg Kristallinat. Durch zweimaligem Umkristallisieren aus Et_2O ergaben sich Prismen vom Schmp. $189\sim 191^\circ$ $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ —Ber.: C, 76.79; H, 8.59. Gef.: C, 76.83; H, 8.64. $[\alpha]_D^{23} + 37$ ($c=1.026$, CHCl_3). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 239.0 m_{μ} (ϵ 17000). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1710 (20-CO); 1669 (3-CO); 1619 (4-en); 3035 (15-H in CS_2).

Öffnung von XIII—100 mg (XIII) wurden in 6 ml Me_2CO gelöst, mit 1 ml H_2O und 0.7 ml N HClO_4 -versetzt und 5 Tage bei Zimmertemperatur stengelassen. Nach Zugabe von Eiswasser wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, die Auszüge mit NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 108 mg Kristallinat, die nach Papierchromatogramm (mit Hilfe von Ultraviolett-Spektrum) aus ca. 70% (VII), ca. 18% (IV) und ca. 12% (V) bestanden. Durch Umkristallisieren aus Me_2CO ergaben sich 13 mg Prismen vom Schmp. $242\sim 245^\circ$, die sich nach allen Daten als identisch mit V erwiesen. Die Mutterlauge von V wurde eingedampft und Rückstand an 3 g Silikagel chromatographiert. Die mit Benzol- Et_2O (9:1) eluierten Fraktionen (34 mg) lieferten aus Et_2O 11 mg Kristalle vom Schmp. $182\sim 185^\circ$, die mit VII identisch waren. Die mit Benzol- Et_2O (6:1) eluierten Fraktionen ergaben aus Et_2O Spuren (IV).

14-Chlor-15 α -hydroxy-14 β ,17 ξ -pregn-4-en-3,20-dion (XIV)—Einer Lösung von 115 mg (II) in 6 ml CHCl_3 wurde HCl -Strom 2.5 Std. bei -3° zugeführt. Hierauf wurde mit 5% NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 120 mg Kristallinat. Durch Umkristallisieren aus Me_2CO und dann aus Et_2O ergaben sich Blättchen vom Schmp. $158\sim 164^\circ$. $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{Cl}$ —Ber.: C, 69.11; H, 8.01; Cl, 9.71. Gef.: C, 68.98; H, 7.96; Cl, 9.42. $[\alpha]_D^{18} + 37^\circ$ ($c=0.811$, CHCl_3). UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 239.8 m_{μ} (ϵ 17000). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3430 (OH); 1707 (20-CO); 1668 (3-CO); 1619 (4-en).

14-Chlor-14 β ,17 ξ -pregn-4-en-3,15,20-trion (XV)—43 mg (XIV) wurden in 2 ml AcOH gelöst, mit einer Lösung von 9 mg CrO_3 in 1.5 ml AcOH (mit einem Tropfen H_2O) versetzt und 24 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen. Nach Zugabe von Wasser wurden die ausgeschiedenen Niederschläge (22 mg) aus Et_2O umkristallisiert. Blättchen vom Schmp. $183\sim 184^\circ$. $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{Cl}$ —Ber.: C, 69.50; H, 7.50. Gef.: C, 69.69; H, 7.56. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1751 (15-CO); 1699 (20-CO); 1680 (3-CO); 1621 (4-en).

Bestimmung von 14,15-Diolen (IV, V, VII und VIII) mit Perjodsäure—ca. 0.05 Milimol Dirole wurden in 50 ml EtOH gelöst, mit 3 ml 0.03 Mol HJO_4 (0.342 g H_5JO_6 in 50 ml H_2O) versetzt, mit EtOH auf 10 ml verdünnt und bei 25° stengelassen. Nach 25, 45, 100 und 200 Std. wurden je 2 ml Probeansatz

TABELLE II.

	Blind- probe	IV	V	VII	VIII	Cortexon	Blind- probe
Einwäg							
Mg	0	6.875	17.232	17.153	17.552	16.658	0
Milimol	0	0.0198	0.0497	0.0495	0.0506	0.0504	0
Nach 25 Std.							
abgelesenes ml. 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (F 0.97)	15.10	15.35	15.125	14.900	14.350	12.950	15.200
% Glykolspaltung	0	0	1.2	12	39	107	0
Nach 45 Std.							
abgelesenes ml. 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (F 0.97)	15.225	15.125	14.875	14.525	14.000	12.950	15.100
% Glykolspaltung	0	3	13	30	56	107	0
Nach 100 Std.							
abgelesenes ml. 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (F 1.00)	14.670	14.650	14.300	13.900	13.100	12.350	14.650
% Glykolspaltung	0	0	18	38	78	115	0
Nach 200 Std.							
abgelesenes ml. 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (F 1.00)	14.150	14.550	14.200	13.550	12.800	12.325	14.000
% Glykolspaltung	0	0	0	26	64	90	0

herausgenommen, mit 2 ml *N* HCl und dann 1 ml 1 Mol KJ versetzt und 10 Min. im Dunkeln stehengelassen. Das ausgeschiedene Jod wurde mit 0.01*N* Na₂S₂O₃ titriert. Das Resultat ist in folgender Tabelle gezeigt.

Dem Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Unterrichtsministerium) danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit. Wir danken Fr^l. H. Yamanouchi und K. Hayashi sowie N. Kurosawa an diesem Laboratorium für die Ausführung der Mikroanalysen sowie die Aufnahme der IR-Spektren.

Zusammenfassung

Es wird über die Synthese sowie die Konfigurationsbestimmung der vier Isomeren des zum Progesteron gehörigen 14,15-Diols geschrieben.

(Eingegangen am 4. Juni 1963)

[Chem. Pharm. Bull.
11 (10) 1282 ~ 1290]

UDC 615.7[616.3-002.44-085]-092

206. Keijiro Takagi, Yutaka Kasuya, and Kazuo Watanabe : *¹ Studies on the Drugs for Peptic Ulcer. Pharmacological Studies on the Effects of Synthetic Antispasmodics mixed with Antacid.

*(Department of Chemical Pharmacology, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo)*

Now a large number of drugs are used for treatment of peptic ulcer, and among them synthetic anticholinergic antispasmodics have been prescribed preferably since methantheline appeared in 1950. Antispasmodics are often administered to patients in combination with antacids and their mixture is frequently prepared for oral administration. This paper deals with two problems. One is to know whether the synthetic antispasmodics are stable or they diminish their therapeutic effects when they are mixed with the antacid, which is a strong base and powerful adsorbent. For this purpose we employed biological assay methods. There are, of course, some methods to estimate the degree of decomposition of drugs by chemical methods, but the former is superior to the latter in this research because it needs only minute samples and it indicates directly the effects of drugs on living organs. Actually it is said to be difficult to assay the contents of antispasmodics by the chemical way when 1~2 mg. of them are mixed and adsorbed in 1 g. of synthetic aluminum silicate. Another purpose is to search the suitable biological assay method for estimating the effects of remedies for peptic ulcer. Although there are many experimental data on their effects on gastric secretion or on isolated gastrointestinal tract, we can scarcely find the experimental report in which the potency ratio of drugs preventing or healing gastric ulcer can be compared directly.

Of some methods to produce peptic ulcer on experimental animals, Shay's procedure¹⁾ is commonly employed for these purposes. In this method, the stomach of a rat is ligated on pylorus after some periods of starvation. With this simple procedure acute peptic ulcers appear consistently only after 16~18 hours. In view of etiology and other

*¹ Bunkyo-ku, Tokyo (高木敬次郎, 粕谷 豊, 渡辺和夫).

1) H. Shay, S. A. Komarov, S. Fels, D. Merenze, M. Gruenstein : Gastroenterology, 5, 43 (1945).