

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Partialsynthese des Aldosterons^{1,2}

Die Anwesenheit einer Sauerstofffunktion in der angulären 18-Stellung, welche Aldosteron (XVII) in charakteristischer Weise von allen übrigen Nebennierenrindenhormonen unterscheidet, hat seine Synthese ausserordentlich erschwert. Aldosteron ist, im Gegensatz zu den andern Corticoiden, bisher nicht durch Partialsynthese aus Naturprodukten zugänglich gewesen, sondern musste durch vielstufige Totalsynthesen³⁻⁷ gewonnen werden.

Die in der Natur vorkommenden Steroidalkaloide mit einer Stickstoff- oder Sauerstofffunktion in 18-Stellung, insbesondere Conessin und Holarrhimin, sind zwar verschiedentlich zu 18-oxygenierten Pregnanen abgebaut

worden⁸⁻¹¹, doch fehlt diesen Produkten die im Aldosteron ausserdem enthaltene 11-Sauerstofffunktion. Auch die Versuche, nach Aufspaltung des Ringes D eine Substitution des Kohlenstoffatoms 18 zu erzielen und hierauf den Ring wieder zu schliessen¹², haben bisher nicht zu brauchbaren Zwischenprodukten für die Aldosteron-Synthese geführt.

¹ Über Steroide, 163. Mitteilung; 162. Mitteilung vgl. P. WIELAND, K. HEUSLER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **43** (1960), im Druck; XV. Mitteilung über Synthesen in der Aldosteron-Reihe; XIV. Mitteilung vgl. J. SCHMIDLIN und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **42**, 2636 (1959).
² Steroide und Sexualhormone, 215. Mitteilung; 214. Mitteilung vgl. B. KAMBER, G. CAINELLI, D. ARIGONI und O. JEGER, *Helv. chim. Acta* **43** (1960), im Druck.
³ J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER und A. WETTSTEIN, *Exper.* **11**, 365 (1955). - J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER, K. HEUSLER, H. UEBERWASSER, P. WIELAND und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **40**, 1034, 1438, 2291 (1957).

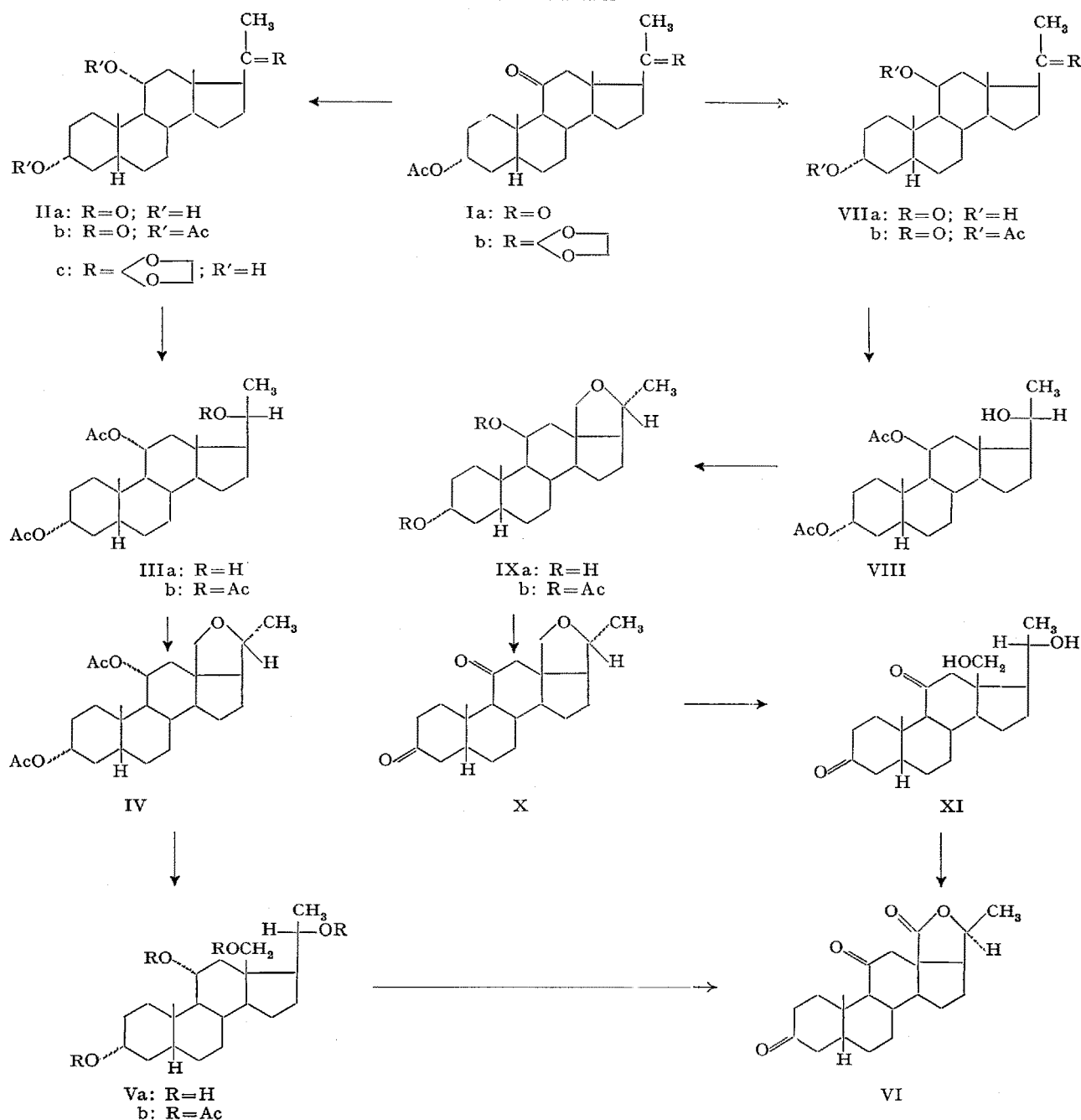
⁴ A. LARDON, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **40**, 666 (1957).
⁵ S. A. SZPILFOGEL, W. J. VAN DER BURG, C. M. SIEGMANN und D. A. VAN DORP, *Rec. trav. chim. Pays-Bas* **75**, 1043 (1956); **77**, 157 (1958). - W. J. VAN DER BURG, D. A. VAN DORP, O. SCHINDLER, C. M. SIEGMANN und S. A. SZPILFOGEL, *Rec. trav. chim. Pays-Bas* **77**, 171 (1958).
⁶ W. S. JOHNSON, J. C. COLLINS; R. PAPPO und M. B. RUBIN, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 2585 (1958).
⁷ K. HEUSLER, P. WIELAND und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **42**, 1586 (1959).
⁸ N. L. McNIVEN, *Chem. and Ind.* **1957**, 1296.
⁹ L. LÄBLER und F. ŠORM, *Chem. and Ind.* **1958**, 1661; *Coll. Czech. chem. Comm.* **24**, 2975 (1959).
¹⁰ F. BUZZETTI, W. WICKI, J. KALVODA und O. JEGER, *Helv. chim. Acta* **42**, 388 (1959).
¹¹ R. PAPPO, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1010 (1959).
¹² H. HEUSSER, J. WOHLFAHRT, M. MÜLLER und R. ANLIKER, *Helv. chim. Acta* **38**, 1399, 1404 (1955); **42**, 2140 (1959). - D. H. R. BARTON, A. DA S. CAMPOS-NEVES und A. I. SCOTT, *J. chem. Soc. (London)* **1957**, 2698.

Tabelle
Eigenschaften der Syntheseprodukte

No.	Smp.	Bruttoformel	Zusammensetzung ^a		IR.-Absorption (μ)			[α] _D
			% C	% H	OH	CO		
IIIa	155-156°	C ₂₅ H ₄₀ O ₅	71,26 (71,39)	9,47 (9,59)	b 2,76	5,78	8,10; 9,77	d - 5°
IV	160-164°	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	71,65 (71,74)	9,10 (9,15)	b	5,76	8,10; 9,75	e + 19,5°
Va	220-230°	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	71,45 (71,55)	10,34 (10,30)	c 3,04		9,46; 9,64; 9,81	e + 41°
Vb	160-162°	C ₂₅ H ₄₄ O ₈	67,17 (66,90)	8,76 (8,52)	b	5,77	8,12; 9,75	e + 59°
VI	214,5-215°	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	73,09 (73,22)	8,40 (8,19)	b	5,65; 5,81	8,50; 8,88	d + 1°
VII b	125-126°	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	71,38 (71,74)	9,51 (9,15)	d	5,80; 5,88		d + 133°
VIII	132-133°	C ₂₅ H ₄₀ O ₅	71,43 (71,39)	9,53 (9,59)	d 2,76	5,80		d + 56°
IXa	223-224°	C ₂₁ H ₃₄ O ₃	75,46 (75,40)	10,28 (10,25)	c 2,94-3,03			f + 41°
X	164-165°	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	76,17 (76,32)	9,03 (9,15)	d	5,85		d + 54°
XI	205-206°	C ₂₁ H ₃₂ O ₄	71,83 (72,38)	9,68 (9,26)	c 2,76; 2,86 3,04-3,13	5,85		d + 78°
XIIg	257°	C ₂₁ H ₂₆ O ₄	73,56 (73,66)	7,74 (7,66)	b	5,65; 5,80 5,95	6,16; 8,87	d + 140°
XIII	274-275,5°	C ₂₃ H ₃₀ O ₅	71,59 (71,48)	7,80 (7,82)	b	5,66; 5,82	9,08	d - 23,5°
XIVb	239,5-240,5°	C ₂₃ H ₃₀ O ₅	71,29 (71,48)	7,79 (7,82)	b	5,62; 5,82	9,07	d + 1°
XV	237,5-239,5°	C ₂₅ H ₃₂ O ₇	67,44 (67,55)	7,11 (7,26)	b	5,63; 5,67 5,75	8,14; 9,07	d - 33°

^a berechnete Werte in Klammern ^b in Methylenchlorid ^c in Nujol ^d in Chloroform ^e in Alkohol ^f in Chloroform-Methanol
^g UV.-Absorption: ε_{239mμ} = 15800.

Formelschema A



Kürzlich sind mehrere Methoden beschrieben worden, welche eine direkte selektive Substitution der angulären, nicht aktivierten Methylgruppe C-18 im intakten Steroidgerüst gestatten¹³⁻¹⁷. Wir berichten nun kurz¹⁸ über die

Anwendung einer dieser Methoden¹⁶ auf 11-oxygenierte Ausgangsstoffe und über die in der Folge geglückte erste Partialsynthese von Aldosteron aus leicht zugänglichen, natürlich vorkommenden Steroiden¹⁹.

Einerseits wurde vom bekannten 3 α ,11 α -Diacetoxypregnan-20-on (IIb)²⁰ ausgegangen, das auf zwei Wegen zugänglich ist. So hat man bei der «klassischen» Cortisone synthese²¹ aus Desoxycholsäure als Zwischenprodukt

¹³ P. BUCHSCHACHER, J. KALVODA, D. ARIGONI und O. JEGGER, J. Amer. chem. Soc. **80**, 2905 (1958).

¹⁴ F. GREUTER, J. KALVODA und O. JEGGER, Proc. chem. Soc. (London) 1958, 349.

¹⁵ E. J. COREY und W. R. HERTLER, J. Amer. chem. Soc. **80**, 2903 (1958); **81**, 5209 (1959).

¹⁶ G. CAINELLI, M. L. MIHAILOVIĆ, D. ARIGONI und O. JEGGER, Helv. chim. Acta **42**, 1124 (1959).

¹⁷ P. BUCHSCHACHER, M. CEREGHETTI, H. WEHRLI, K. SCHAFFNER und O. JEGGER, Helv. chim. Acta **42**, 2122 (1959).

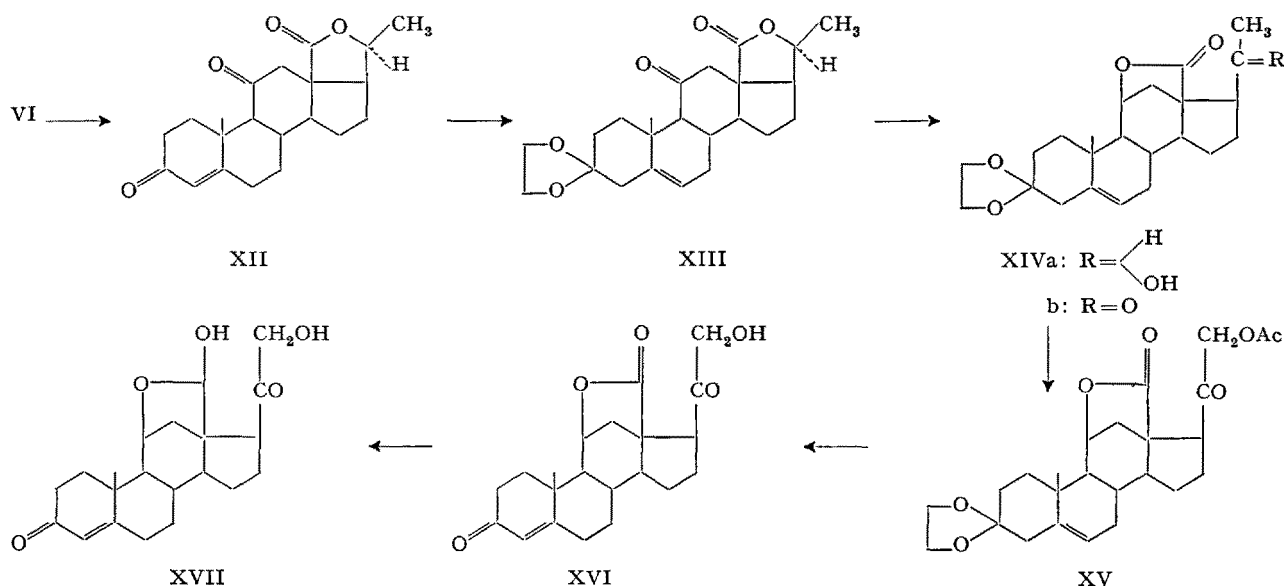
¹⁸ Eine ausführliche Mitteilung folgt in Helv. chim. Acta.

¹⁹ Diese Arbeit stellt einen weiteren Beitrag der gemeinsamen Anstrengungen zur Synthese von Aldosteron dar; vgl. Exper. **11**, 365 (1955), Fussnote 2.

²⁰ O. MANCERA, H. J. RINGOLD, C. DJERASSI, G. ROSENKRANZ und F. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. **75**, 1286 (1953).

²¹ B. F. MCKENZIE, V. R. MATTOX, L. L. ENGEL und E. C. KENDALL, J. biol. Chem. **173**, 271 (1948).

Formelschema B



das Diketon Ia hergestellt, welches in Form seines 20-Ketals Ib²³ mit Natrium und Propanol²³ zum Dihydroxyketal IIc reduziert werden konnte; letzteres lieferte durch Ketalsspaltung IIa²³ und durch anschliessende Acetylierung das oben genannte Diacetoxy-keton IIb. Diese Verbindung ist andererseits auch aus 11 α -Hydroxyprogesteron durch katalytische Hydrierung, Natriumborhydrid-Reduktion und Acetylierung hergestellt worden²⁰. Da letzteres aus Diosgenin und aus Stigmasterin erhalten werden kann, ist unser Ausgangsmaterial sowohl aus Gallensäuren, als auch aus pflanzlichen Sapogeninen und Sterinen leicht zugänglich.

Die katalytische Hydrierung des Diacetoxyketons IIb lieferte das 20-ol IIIa. Dieses wurde mit Bleitetraacetat¹⁶ in Methylcyclohexan oxydiert, wobei ein Gemisch entstand, dessen Hauptkomponenten der 18,20-Äther IV und das Triacetat IIIb²³ darstellten. Der durch Chromatographie abgetrennte reine Äther IV oder das rohe Gemisch wurde dann mit Bortrifluorid-Ätherat in Essigsäureanhydrid behandelt²⁴. Das erhaltene Tetraacetat Vb konnte chromatographisch an Aluminiumoxyd leicht vom Triacetat IIIb getrennt werden. Die Verseifung von Vb mit Kaliumhydroxyd in Methanol lieferte das Tetrol Va. Bei der Dehydrierung von Va mit Chromtrioxyd in Eisessig wurde die 18-Hydroxylgruppe überraschend schnell angegriffen, so dass als Hauptprodukt das Lacton VI entstand, in dem die 20-Hydroxylgruppe nicht oxydiert worden war.

Anstelle der 11 α -Acetoxy-Verbindung IIIa konnte als Ausgangsstoff auch das 11 β -Acetat VIII verwendet werden, welches aus dem Diketon Ia über das 20-Ketal Ib, anschliessende Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid, Ketalsspaltung²² zu VIIa, energische Acetylierung zu VIIb und katalytische Reduktion gewonnen wurde. In dem bei der Bleitetraacetat-Oxydation gebildeten 18,20-Äther IXb wurden die beiden Acetatgruppen mit Li-

thiumaluminiumhydrid gespalten und das entstandene Diol IXa lieferte mit Chromtrioxyd-Schwefelsäure das Diketon X. Unter der Einwirkung von Essigsäureanhydrid und Bortrifluorid-Ätherat öffnete sich der Oxydring und nach Verseifung mit methanolischer Kalilauge erhielten wir das Diol XI. Dieses wurde mit Chromtrioxyd-Schwefelsäure in Aceton zum oben beschriebenen Diketolacton VI dehydriert.

Bromierung von VI in Eisessig und Dehydrobromierung mit Lithiumchlorid und Lithiumcarbonat in Dimethylformamid²⁶ führte zum α,β -ungesättigten Keton XII, dessen 3-Ketogruppe durch Ketalisierung geschützt wurde. Bei der Reduktion des Ketals XIII mit Natriumborhydrid in Methanol unter Zusatz von Natriumhydroxyd trat Umlactonisierung zum (nicht isolierten) 20-Hydroxylacton XIVa ein. Durch Dehydrierung mit Pyridin-Chromtrioxyd erhielten wir daraus das (18 $\rightarrow$ 11)-Lacton der Δ^6 -3-Äthylendioxy-11 β -hydroxy-20-oxo-pregnen-18-säure (XIVb). Sein IR.-Spektrum war völlig identisch mit demjenigen des früher²⁶ totalsynthetisch gewonnenen Racemats dieser Verbindung.

Das Methylketon XIVb wurde nun wie für die entsprechende racemische Verbindung angegeben²⁷ mit Oxalester kondensiert, das Kondensationsprodukt jodiert und mit Kaliumacetat behandelt. Dabei entstand das optisch aktive Acetoxyketon XV, das früher²⁷ durch Spaltung seines Racemats erhalten und zum Ketol XVI hydrolysiert worden war²⁸. Die Umwandlung von Verbindung XVI in d-Aldosteron ist bereits bekannt²⁹.

²⁵ R. JOLY, J. WARNANT, G. NOMINÉ und D. BERTIN, Bull. Soc. chim. France 1958, 366.

²⁶ J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER, K. HEUSLER, H. UEBERWASSER, P. WIELAND und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 40, 1438 (1957).

²⁷ J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER, K. HEUSLER, H. UEBERWASSER, P. WIELAND und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 40, 2291 (1957).

²⁸ Das optisch aktive Hydroxyketon XVI war von E. VISCHER, J. SCHMIDLIN und A. WETTSTEIN (Exper. 12, 50 (1956)) durch mikrobiologische 21-Hydroxylierung des entsprechenden racemischen Methylketons hergestellt worden.

²⁹ J. VON EUW, R. NEHER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1423 (1955).

²² E. P. OLIVETO, T. CLAYTON und E. B. HERSHBERG, J. Amer. chem. Soc. 75, 486 (1953).

²³ E. P. OLIVETO, H. L. HERZOG und E. B. HERSHBERG, J. Amer. chem. Soc. 75, 1505 (1953).

²⁴ B. KAMBER, G. CAINELLI, D. ARIGONI und O. JEGER, Helv. chim. Acta 43 (1960), im Druck.

Die oben beschriebenen Reaktionen stellen somit die erste Partialsynthese von Aldosteron aus 18-unsubstituierten natürlichen Steroiden dar.

K. HEUSLER, J. KALVODA, CH. MEYSTRE,
P. WIELAND, G. ANNER und A. WETTSTEIN.
G. CAINELLI, D. ARIGONI und O. JEGER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, und Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, 24. November 1959.

Summary

The preparation of the (18 $\rightarrow$ 11 β)-lactone of 4³-3-ethylenedioxy-11 β -hydroxy-21-acetoxy-20-oxo-pregnen-18-oic acid (XV) is reported. Since this compound has previously been transformed into aldosterone, the reactions described represent the first partial synthesis of this important hormone from readily available 18-unsubstituted natural steroids.

The Antitoxic Effect of Aldosterone

Adrenal hormones — including those produced by the medulla, such as nor-adrenaline, and those emanating from the cortex, such as aldosterone — are essential for certain cardiovascular effects of endogenous amines. Aldosterone constitutes an exception among the corticosteroids inasmuch as no other adrenocortical substances have been found to display an effect analogous to that of aldosterone¹⁻³. The experiments described below confirm the importance of the role of aldosterone in homeostasis.

Bacterial toxins are liable to give rise to a lethal syndrome characterised chiefly by hemorrhages, involving also the adrenals in particular, and by circulatory failure. We therefore investigated what effect aldosterone⁴, as one of the genuine cortical substances⁵, has upon this syndrome.

Our experiments were carried out on cats anaesthetised with Dial-urethane (Dial, Ciba, 30 mg/kg i. p. and 30 mg/kg s.c.). The endotoxin employed should, on the one hand, be such as to produce death within the time limits imposed by the acute nature of the experiment, but, on the other hand, it should not have such an acute action that it becomes impossible to analyse the resulting circulatory failure. Consequently, we selected endotoxins which, given in comparatively small intravenous doses, were capable of killing all the anaesthetised but otherwise untreated cats within an average of 1½–2 h⁴.

The preparations used were of the polysaccharide type obtained from *Proteus* — Prep. 19338/7, 20117/1, and 23871/5 (KAHNT)—and from *Serratia*, i.e. Prep. 22148/E (SHEAR). The observation time lasted 6–7 h following administration of the endotoxin.

¹ R. MEIER and H. J. BEIN, *Helv. physiol. Acta* **8**, 436 (1950).

² H. J. BEIN and R. MEIER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **219**, 273 (1953).

³ R. MEIER and H. J. BEIN, *Helv. physiol. Acta* **12**, C 83 (1954).

⁴ We should like to express here our thanks to Dr. J. SCHMIDLIN for the preparations of D,L-aldosterone and to Dr. F. W. KAHNT and Dr. M. J. SHEAR for the endotoxins with which they so kindly supplied us.

⁵ A. WETTSTEIN, *Exp. Ann. Biochim. Méd.* **19**, 171 (1957).

Table I

Cat: PPS No. 20117/1: 0.03 mg/kg i.v.

	mg/kg i.v. 30 min bef. PS	Number of animals	
		sur- viving	dying
Controls		0	6
D,L-Aldosterone (free)	0.01	0	1
	0.03	3	0
	0.1	3	0
	30.0	0	1
Cortexone (-glycoside)	50.0	0	3
	150.0	0	1
Hydrocortisone (Na salt of the hemitetrahydrophthalate)	20.0	0	1
	30.0	4	0
Prednisolone (Na salt of the hemitetra- hydrophthalate)	1.0	0	1
	3.0	0	1
	10.0	0	1
	20.0	5	0
SEF (-Na-dihemisuccinate) . .	1.0	0	2
D,L-Aldosterone 0.03 + SEF . .	0.03	2	0
0.03 + SEF . .	0.1	2	0
0.03 + SEF . .	1.0	0	3
0.1 + SEF . .	1.0	1	1

PPS No. 23871/5: 0.1 mg/kg i.v.

Controls		1	6
D,L-Aldosterone	0.03	1	3
	0.1	5	0
Hydrocortisone	30.0	2	1
Prednisolone	20.0	4	0
Corticosterone (free)	1.0	0	1
	10.0	0	1
	30.0	0	1

PPS No. 19338/7: 0.2 mg/kg i.v.

Controls		0	3
D,L-Aldosterone	0.03	0	2
	0.1	2	0

From Table I it will be seen that aldosterone affords protection against shock elicited by *Proteus* polysaccharides (PPS) and that the amount required for this purpose is to some extent related to the size of the dose of PPS administered and to the type of polysaccharide involved. 3 β ,16 α -dihydroxy-allopregnan-20-one (referred to here under the abbreviation SEF)^{6,7}, exerts a competitive antagonistic effect on this protective action of aldosterone. Administered prophylactically, other corticosteroids, e.g. hydrocortisone and prednisolone, also afford protection. On the other hand, corticosterone and cortexone, even in very large doses, are ineffective. In this experiment, aldosterone not only proved over 100 times more active than hydrocortisone and prednisolone, but, in contrast to prednisolone, it also afforded protection in advanced stages of endotoxin poisoning (Table II).

The effect of endogenous amines on the blood pressure is altered in characteristic fashion in animals suffering from endotoxin shock: that of nor-adrenaline is suppressed, and that of adrenaline reversed. Aldosterone restores the original action of adrenaline and nor-adrenaline on the

⁶ R. NEHER, P. A. DESAULLES, E. VISCHER, P. WIELAND, and A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **61**, 1667 (1958).

⁷ P. A. DESAULLES, *Exper.* **15**, 301 (1959).