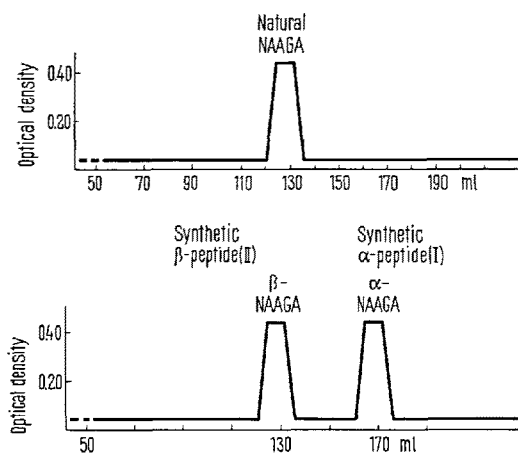


in the presence of dicyclohexylcarbodiimide, was converted into the diethyl-N-acetyl- β -methyl-L-aspartyl-L-glutamate, with m.p. 122–124° and $[\alpha]_D^{25} = -24^\circ$ (C5 in water). Such a triester by mild alkaline hydrolysis gave the α -peptide (I), with m.p. 171–173° and $[\alpha]_D^{25} = -27.5^\circ$ (C2 in water).

Acetylation of α -methyl-L-aspartate with acetic anhydride gave the α -methyl-N-acetyl-L-aspartate (with m.p. 121–122° and $[\alpha]_D^{25} = -12^\circ$ (C5 in ethanol). By reaction with isobutylchloro-carbonate and triethylamine, the mono-acid was converted into its mixed anhydride, which was condensed with diethyl-L-glutamate to give the diethyl-N-acetyl- α -methyl-L-aspartyl-L-glutamate,



Chromatography in 20 · 0.9 cm. Dowex 2 · 8 columns.

with m.p. 103–105° and $[\alpha]_D^{25} = -36.2^\circ$ (C4 in ethanol). The triester by cautious alkaline hydrolysis gave the β -peptide (II), with m.p. 115–116° and $[\alpha]_D^{24} = -37.5^\circ$ (C2 in water).

Comparison of the natural and the two synthetic dipeptides has been carried out by paper chromatography, as well as by column chromatography on an ion-exchange resin.

The paper chromatogram developed with the system *n*-butanol:acetic acid:water (60:25:15) showed that NAAGA and the β -peptide had the same *R_f* (0.70), and was markedly different from that of the α -peptide (0.60).

The chromatography was carried out in columns of 0.9 · 20 cm on Dowex 2 · 8 (200–400 mesh), washed with formic acid and then with distilled water. The elution was effected at a flow rate of 6 ml/h with a gradient of formic acid (from 0 to 3*M*), and the samples were of 1 ml each. The collected fractions were hydrolysed with sodium hydroxide 6*N* at 100°C, and after treatment with ninhydrin their optical densities were evaluated.

The results, schematically reported in the Figure, show that the synthetic peptide (II) is identical with the natural product.

Riassunto. Si descrive la sintesi dei due dipeptidi isomerici acido N-acetil- α -L-aspartil-L-glutammico (I) e acido N-acetil- β -L-aspartil-L-glutammico (II). Il loro confronto con il NAAGA, dipeptide precedentemente isolato dal tessuto nervoso di alcuni mammiferi, ha dimostrato l'identità del nuovo metabolita con il β -dipeptide (II).

E. MARCHETTI and G. MATTALIA

*Istituto Farmacologico Serrone, Roma (Italy),
July 20, 1965.*

17 β -Hydroxymethyl-Steroide: Darstellung von Derivaten des 17 β -Hydroxymethyl-4-androsten-3-ons

Vor kurzem¹ berichteten wir über Synthese und Strukturbeweis des 17 α -Hydroxy-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-ons. In der folgenden Arbeit wird die Darstellung der 4-Chlor-(VIII), 1,2-Dehydro-(X) und 11 β -Hydroxy-(XVI) Derivate des 17 β -Hydroxymethyl-4-androsten-3-ons (VI) beschrieben.

17 β -Hydroxymethyl-4-androsten-3-on (VI). Zur Darstellung von Verbindung VI wird 3-Keto-4-ätiensäuremethylester^{2,3} (I) in Anlehnung an die Methode von ALLEN⁴ in 3,3-Äthylendioxy-5-ätiensäuremethylester (II) überführt. Reduktion von II mit Lithiumaluminiumhydrid in einem Gemisch von Benzol und Äther, sowie anschließende Veresterung des entstandenen 3,3-Äthylendioxy-17 β -hydroxymethyl-5-androstens (III) mit Acetanhydrid in Pyridin ergeben 3,3-Äthylendioxy-17 β -acetoxymethyl-5-androsten (IV). Durch Entfernung der Ketalgruppe mit *p*-Toluolsulfonsäure in Aceton⁵ erhält man aus Verbindung IV das 17 β -Acetoxymethyl-4-androsten-3-on (V). Dessen alkalische Verseifung ergibt schliesslich 17 β -Hydroxymethyl-4-androsten-3-on (VI). Die physikalischen Konstanten von V und VI stimmen

mit den in der Literatur^{3,6} für diese Verbindungen angegebenen Werten überein.

4-Chlor-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-on (VIII). Durch Chlorierung von Verbindung V mit Sulfurylchlorid in Pyridin⁷ entsteht 4-Chlor-17 β -acetoxymethyl-4-androsten-3-on (VII). Verseifung von Verbindung VII mit *p*-Toluolsulfonsäure in Methanol führt zu 4-Chlor-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-on (VIII). Die Struktur dieser Verbindung folgt aus der C-, H-, Cl-Analyse, dem UV-Spektrum (λ_{max} : 256 nm; $\log \epsilon = 4.1$; CH₃OH) und dem IR-Spektrum (ν_{max} : 1577, 1680 cm⁻¹; Nujol).

17 β -Hydroxymethyl-1,4-androstadien-3-on (X). Die Dehydrierung von Verbindung V mit seleniger Säure in

¹ A. SCHUBERT und S. SCHWARZ, *Exper.* 21, 499 (1965).

² M. STEIGER und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* 20, 1040 (1937).

³ K. MIESCHER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 22, 1262 (1939).

⁴ W. S. ALLEN, S. BERNSTEIN und R. LITTELL, *J. Am. chem. Soc.* 76, 6116 (1954).

⁵ Zur Methode vgl. G. ROSENKRANZ, J. PATAKI und C. DJERASSI, *J. org. Chem.* 17, 290 (1952).

⁶ *Dän. Pat.* 74977; *Chem. Abstr.* 47, 12430 (1953).

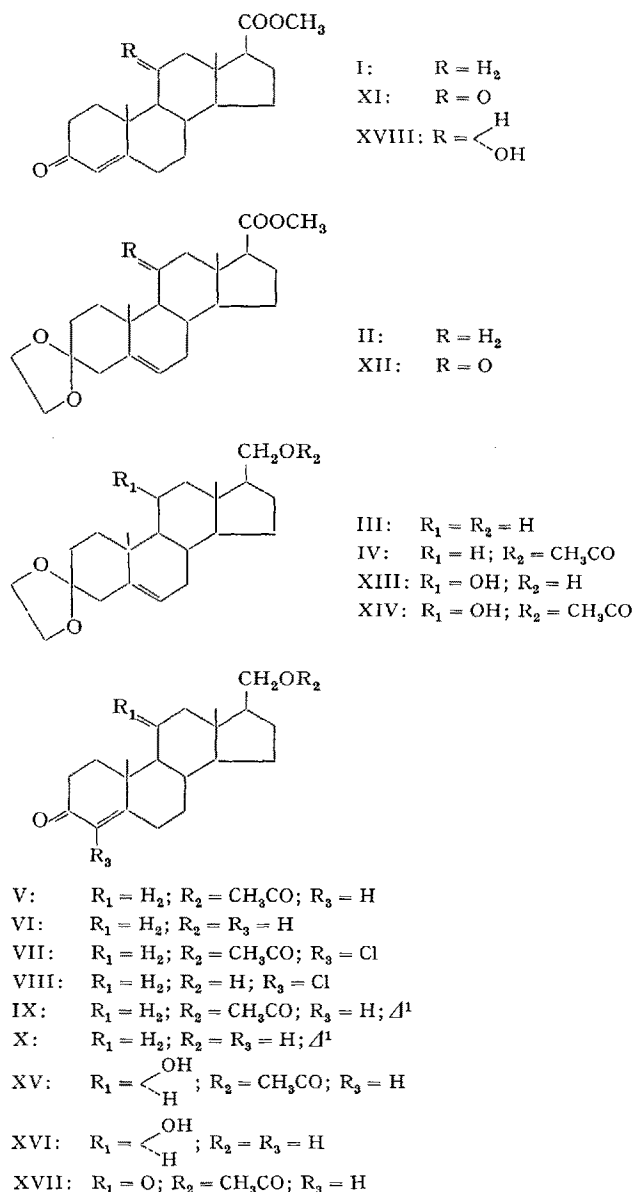
⁷ Zur Methode vgl. DAS 1142359; *Chem. Abstr.* 56, 11665 (1962).

tert. Amylalkohol⁸ ergibt 17 β -Acetoxymethyl-1,4-androstadien-3-on (IX), dessen alkalische Verseifung zum 17 β -Hydroxymethyl-1,4-androstadien-3-on (X) führt. Während Verbindung VI im UV-Spektrum eine Absorptionsbande bei 240 nm ($\log \epsilon = 4,2$; CH₃OH) aufweist, zeigt Verbindung X eine solche bei 245 nm ($\log \epsilon = 4,2$; CH₃OH). Dieser bathochrome Effekt ist für $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosysteme charakteristisch⁹. Auch das IR-Spektrum ($\nu_{\max}$: 1605, 1615, 1662 cm⁻¹; Nujol) und der $\Delta[\Phi]$ -Wert der neu eingeführten Doppelbindung von -254° ¹⁰ stehen mit der angenommenen Struktur von Verbindung X in Einklang.

Die 1,2-Dehydrierung von Verbindung VI kann auch auf mikrobiologischem Wege erfolgen. So erhält man Verbindung IX durch 24stündige Inkubation von VI mit *Mycobacterium* sp. und nachfolgende Veresterung des rohen Reaktionsproduktes mit Acetanhydrid in Pyridin. Die Identität beider, auf chemischem oder biologischem Wege dargestellten Substanzen wurde durch Vergleich der Schmelzpunkte, der optischen Drehwerte sowie der UV- und IR-Spektren sichergestellt.

11 β -Hydroxy-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-on (XVI). Zur Darstellung von Verbindung XVI wird 3,11-Diketo-4-ätiensäuremethylester (XI)¹¹ (Darstellung siehe unten) nach der SALMI-Methode¹² in das 3-Äthylenketal XII umgewandelt. Anschliessend wird diese Verbindung mit Lithiumaluminiumhydrid in einem Gemisch von Benzol und Äther zu 3,3-Äthylendioxy-11 β -hydroxy-17 β -hydroxymethyl-5-androsten (XIII) reduziert. Acetylierung von XIII mit Acetanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur ergibt 3,3-Äthylendioxy-11 β -hydroxy-17 β -acetoxymethyl-5-androsten (XIV). Durch Ketalspaltung mit *p*-Toluolsulfonsäure in Aceton⁵ erhält man aus XIV das 11 β -Hydroxy-17 β -acetoxymethyl-4-androsten-3-on (XV), dessen alkalische Hydrolyse zum 11 β -Hydroxy-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-on (XVI)¹³ führt. Veresterung von Verbindung XVI mit Acetanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur ergibt wieder XV.

Die Tatsache, dass XVI unter milden Bedingungen ein Monoacetat (XV) bildet und dieses von Chrom-VI-oxid in wässriger Essigsäure zu 17 β -Acetoxymethyl-4-androsten-3,11-dion (XVII)¹³ oxydiert wird, stimmt mit der Annahme der Struktur von Verbindung XVI ebenso



Verbindung	Fp.	$[\alpha]_D$
I	130,0–132,5°	+ 150,0°
II	200,0–203,0°	+ 20,5° ^a
IV	169,0–170,0°	– 24,5° ^a
V	113,0–114,0°	+ 93,0°
VI	156,0–157,5°	+ 101,0°
VII	89,0– 91,5°	+ 113,0°
VIII	195,0–198,5°	+ 117,5°
IX ^c	147,0–149,5°	+ 37,0°
IX ^d	147,0–148,5°	+ 41,0°
X	166,5–169,0°	+ 17,0°
XI ^a	180,0–182,0°	+ 240,0°
XI ^e	178,0–181,5°	+ 240,0°
XII	177,0–179,5°	+ 80,0° ^a
XIV	158,5–161,0°	– 42,0° ^a
XV ^f	146,0–155,5°	+ 134,0°
XV ^g	147,5–155,5°	+ 127,0°
XVI	212,0–215,0°	+ 134,5° ^b
XVII	157,0–160,0°	+ 168,0°
XVIII	169,0–171,0°	+ 148,5°

^a In Pyridin; ^b in Methanol; ^c mit H₂SeO₃; ^d mikrobiologisch; ^e aus Cortisonacetat; ^f aus XIV; ^g aus XVI.

⁸ Zur Methode vgl. CH. MEYSTRE, H. FREY, W. VOSER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 39, 734 (1956). – S. A. SZPILFÖGEL, T. A. P. POSTHUMUS, M. S. DE WINTER und D. A. VAN DORP, *Rec. trav. chim. Pay-Bas* 75, 475 (1956).

⁹ L. DOREFMAN, *Chem. Rev.* 53, 47 (1953).

¹⁰ Der Mittelwert aus den molaren Drehwertbeiträgen der Δ^1 -Doppelbindung in Prednisolon, 1,2-Dehydrocortexon, 1,2-Dehydrocortexolon und 1,2-Dehydro-testosteron beträgt -244° .

¹¹ H. L. MASON, W. M. HOEHN, B. F. MCKENZIE und E. C. KENDALL, *J. biol. Chem.* 120, 719 (1937).

¹² E. SALMI, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 71, 1803 (1938). – E. SALMI und V. RANNIKKO, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 72, 600 (1939).

¹³ Während der Durchführung unserer experimentellen Arbeiten erfuhr wir von der Darstellung des 11 β -Hydroxy-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-ons (Fp. 205–207°; $[\alpha]_D^{19}$: + 124° (CH₃OH)), des 11 β -Hydroxy-17 β -acetoxymethyl-4-androsten-3-ons (Fp. 148 bis 159°) und des 17 β -Acetoxymethyl-4-androsten-3,11-dions (Fp. 153–155°; $[\alpha]_D$: + 152,2° (CHCl₃)): E. CASPI und H. ZAJAC, *J. chem. Soc.* 1964, 586.

überein, wie der $\Delta[\Phi]$ -Wert von $+123^\circ$ für die 11-ständige Hydroxylgruppe¹⁴.

3,11-Diketo-4-ätiensäuremethylester (XI)¹¹ erhält man durch mikrobiologische Hydroxylierung von Verbindung I mit *Rhizopus nigricans* E., wobei zunächst 11 α -Hydroxy-3-keto-4-ätiensäuremethylester (XVIII)¹⁵ entsteht, der anschliessend mit Chrom-VI-oxid in N,N-Dimethylformamid/Schwefelsäure¹⁶ oxydiert wird.

Verbindung XI ist andererseits auch aus Cortisonacetat zugänglich: 21,21-Bismethoxy-4-pregnen-3,11,20-trion¹⁷, durch MATTOX-Umlagerung¹⁷ von Cortisonacetat erhältlich, wird in Anlehnung an die Methode von RE¹⁸ in 11-Dehydro-corticosteron umgewandelt. Dessen oxydativer Abbau mit Chrom-VI-oxid in wässriger Essigsäure führt zur 3,11-Diketo-4-ätiensäure¹¹, die nach Veresterung mit Diazomethan schliesslich XI ergibt.

Die Tabelle gibt einen Überblick über Schmelzpunkte und optische Drehwerte¹⁹ der dargestellten Verbindungen. Von allen angeführten Substanzen wurden Elementaranalysen, UV- und IR-Spektren angefertigt, die mit den angegebenen Strukturen in Einklang stehen²⁰.

Summary. Starting from methyl 3-oxo-4-etienate, the authors prepared 17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-one and 11 β -hydroxy-17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-one.

Chlorination of 17 β -acetoxymethyl-4-androsten-3-one yielded 4-chloro-17 β -acetoxymethyl-4-androsten-3-one. 17 β -Hydroxymethyl-1,4-androstadien-3-one was obtained from 17 β -hydroxymethyl-4-androsten-3-one, both by chemical and biological methods.

A. SCHUBERT und S. SCHWARZ

Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena (DDR), 13. Mai 1965.

¹⁴ Der Mittelwert aus den molaren Drehwertbeiträgen der 11 β -Hydroxygruppe in Corticosteron, Hydrocortison, 11 β -Hydroxyprogesteron und 11 β -Hydroxytestosteron beträgt $+161^\circ$.

¹⁵ F. REBER, A. LARDON und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* 37, 45 (1954).

¹⁶ Zur Methode vgl. G. SNATZKE, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 94, 729 (1961).

¹⁷ V. R. MATTOX, *J. Am. chem. Soc.* 74, 4340 (1952).

¹⁸ L. RE, *Steroids* 2, 465 (1963).

¹⁹ Schmelzpunkte sind unkorrigiert; optische Drehwerte in Chloroform, soweit nicht anders angegeben.

²⁰ Fräulein G. KRETZSCHMANN wird an dieser Stelle für ihre experimentelle Mitarbeit gedankt. Herrn Dr. K. HELLER verdanken wir Aufnahme und Interpretation der IR-Spektren.

Stereochemistry of Corydaline and Related Alkaloids¹

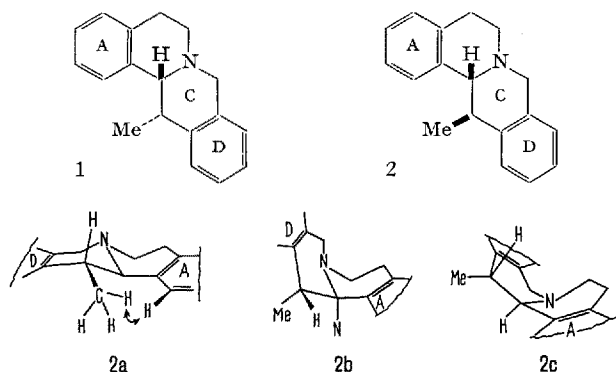
Conflicting reports exist on the stereochemistry of the protoberberine alkaloid corydaline. BERSCH² has suggested a *cis*-C(13), C(14) configuration for the alkaloid, whereas in a more recent proposal KONDO³ has assigned the alternative *trans* stereochemistry at these positions.

A re-evaluation of the evidence is presented which supports the earlier assignment made by BERSCH⁴.

Corydaline, in contrast to its 13-epimer mesocorydaline, shows the so-called BOHLMANN bands⁵ in its IR-spectrum indicative of a *trans*-quinolizidine. This evidence, in conjunction with the fact that these bases undergo Hofmann degradation to afford characteristically different products, has been interpreted by BERSCH in favor of a *cis* 13, 14-configuration.

Isomer (1) can be represented by three conformations (1a–1c). Conformation (1a), possessing a *trans*-quinolizidine ring juncture is anticipated to be the most stable and therefore, from its predominance at equilibrium, compounds in this series would be expected to exhibit BOHLMANN bands in their IR-spectra. Isomer (2) in which the 13, 14-hydrogens are *trans* can similarly be represented by the three conformations (2a–2c). However, in this case the *trans*-quinolizidine conformation is destabilized by an energetically unfavorable non-bonded

interaction of the 13-methyl hydrogens with the 1-hydrogen. Consequently, the most stable conformation is likely to be one of the *cis*-quinolizidine forms (2b or 2c) in which this steric compression is relieved. Hence, the



¹ Protoberberine alkaloids, Part 1.

² H. W. BERSCH, *Archiv. der Pharm.* 291, 595 (1958).

³ Y. KONDO, *J. pharm. Soc. Japan* 83, 1017 (1963).

⁴ Although the conclusions reached by BERSCH were essentially correct, the arguments used were, in parts, invalid and the portrayal of the various conformations discussed was unclear. In view of the rejection of KONDO's alternative proposal for the stereochemistry of corydaline here presented, and the later extension (vide infra) of arguments based on conformational analysis which lead to configurational assignments of related alkaloids, a statement of the factors involved is warranted.

⁵ F. BOHLMANN, *Chem. Ber.* 91, 2157 (1958); 92, 1798 (1959). – E. WENKERT and D. K. ROYCHAUDHURY, *J. Am. chem. Soc.* 78, 6417 (1956).

