

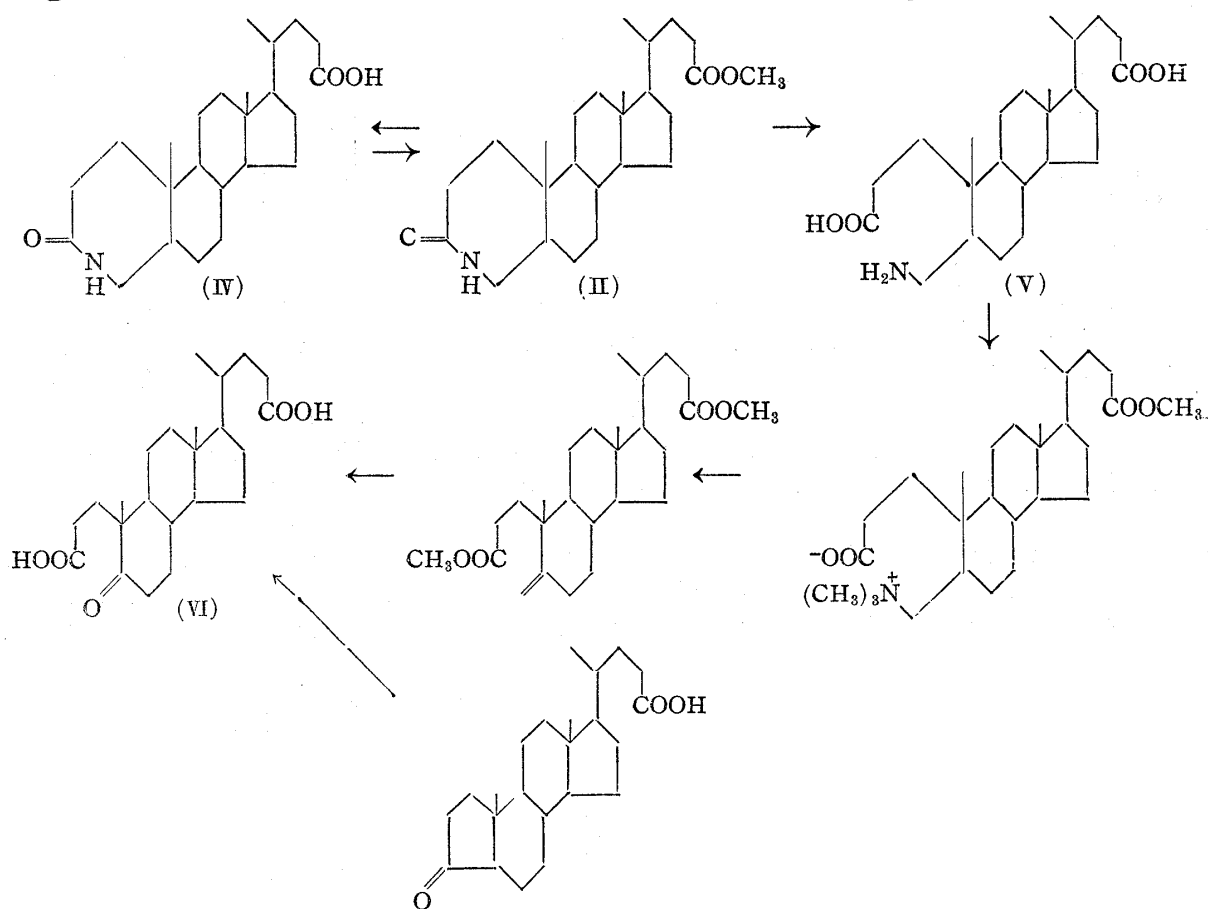
60. Shoji Hara : Aza-Steroide. II.¹⁾ Synthese der A-Azacholan-Derivate. (2).

(Pharmz. Institut d. Mediz. Fakultät d. Universität Tokyo*)

In der I. Mitteilung¹⁾ habe ich 3-Keto-A-norcholansäuremethylester durch die Schmidt'sche Reaktion oder durch die Beckmann'sche Umlagerung seines Oxims in zwei entsprechende isomere Lactame (A und B) übergeführt und analogerweise aus 3-Keto-cholansäuremethylester drei isomere Lactame (C, D und E) hergestellt. Über die Frage ihrer Konstitution wurde dabei noch offen gehalten.

Zur Konstitutionsermittlung dieser Lactame habe ich zunächst unternommen, den Lactam-Ring aufzuspalten und die entstandene Aminosäure mittels erschöpfender Methylierung nach Hofmann abzubauen.

Der Lactam-A (I) und -C (II) sind beim Erhitzen in alkalischem Medium leicht verseifbar. Hierbei entstanden die Säuren (III und IV), deren nur die Seitenketten der Ester-Gruppe verseift wurden, sodass sie durch Methylierung je in das ursprüngliche Lactam überführbar sind. Der Lactam-Ring in (I) ist so beständig, dass er selbst beim Alkalischi-melzen oder beim Erhitzen mit konz. Salzsäure im Rohr nicht aufgespalten wird. Der-selbe Ring im Lactam-C (II) war jedoch ziemlich leicht spaltbar. Beim Erhitzen mit konz. Salzsäure im Rohr auf 100° ging es in die entsprechende Aminosäure (V) über, in welcher sowohl die Ester-Gruppe wie der Lactam-Ring verseift wurden. Die letztere wurde durch Einwirkung von Jodmethyl und Silberoxyd in das entsprechende Betain übergeführt und im Hochvakuum destilliert. Das hierbei unter Spaltung von Trimethyl-

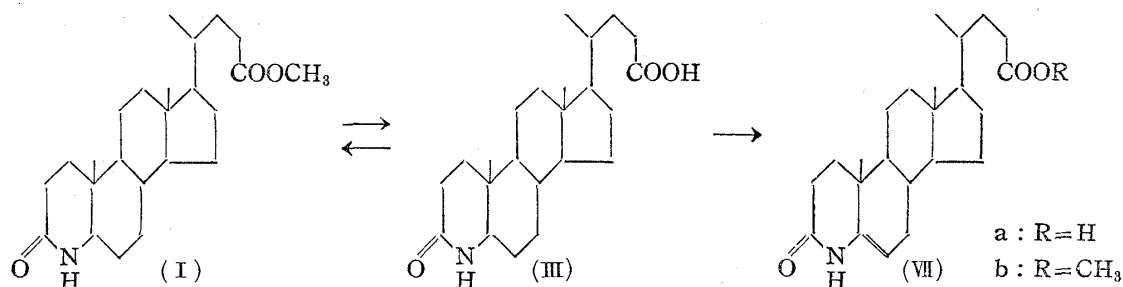


* Hongo, Tokyo (原 昭二).

1) Mitteil. I : Dieses Bulletin, 3, 209(1955).

amin übergegangene Destillat wurde nach nochmaliger Veresterung mit Diazomethan mit Ozon abgebaut und dann verseift. Hierbei entstand eine prismatische Säure vom Schmp. 181~184°, die das prismatische Oxim vom Schmp. 196~197° bildete. Diese Ketocarbonsäure sowie ihr Oxim wurde durch den direkten Vergleich mit dem entsprechenden Präparat der Ketodicarbonsäure (VI) identifiziert, die durch Oxydation von 3-Keto-A-norcholansäure erhalten wurde. Die Konstitution von Lactam-C wurde somit als 4-Azakörper (II) und dementsprechend das Lactam-D als 3-Azakörper festgestellt.

Die Säure (III), die durch Verseifen von Lactam-A erhalten wurde, wurde nun mit KMnO_4 in alkalischem Medium oxydiert. Hierbei entstanden Prismen vom Schmp. 314~315° (VIIa), die beim Methylieren mit Diazomethan nadelförmigen Methylester vom Schmp. 227~229° (VIIb) gaben. Der letztere zeigte eine deutliche Färbung mit Tetranitromethan und blieb gegen die Ketonreagenzien ganz indifferent. Die IR-Spektren der beiden letzteren wiesen auf das Vorliegen von $-\text{NHCO}-$ (3.13, 3.27, 5.95, 6.00 μ), $-\text{COO}-\text{CH}_3$ (5.76 μ), $-\text{NH}-\text{C}=\text{C}-$ (6.17 μ), und $\text{R} > \text{C}=\text{C} < \text{H}$ (12.00 μ) Gruppe hin. Aus diesen Daten sowie ihren Analysenzahlen schrieb ich ihnen die Formeln (VIIa) und (VIIb) zu. Die grosse lävo-Molekulardrehung von (VIIb) ($[\alpha]_D^{25}$: -380°) sowie das UV-Spektrum desselben ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 236 μ (log ϵ 4.17)) stimmte mit dieser Annahme auch gut überein. Hiermit durfte man höchst wahrscheinlich annehmen, dass das Lactam-A der Formel (I) entspricht,²⁾ wie schon in der I. Mitteilung aus den Diskussionen über die Umlagerung von 2-Alkylderivaten des Cyclopentanons bzw. Cyclohexanons geschlossen wurde.



Zur Bestätigung dieser Annahme wurde die Selen-Dehydrierung des A-Azacholans (VIII), des Reduktionsproduktes von Lactam-A mittels LiAlH_4 , ausgeführt. (VIII) wurde nämlich mit pulverisiertem Selen durch langstündiges Erhitzen auf 380~400° dehydriert. Der basische Teil des Dehydrierungsproduktes, der nur etwas mehr als 2% des Ausgangsmaterials betrug, wurde nach der im Versuchsteil näher beschriebenen Weise chromatographisch getrennt und 8 Pikrate rein isoliert, die in der Tabelle I gezeigt werden. In der Fig. 1, 2, und 3 wurden die UV-Absorptionsspektren der freien Basen aus diesen Pikraten aufgenommen. Das UV-Absorptionsspektrum der freien Basen des Pikrates Nr. 8 stimmen mit der Beschreibung von 1-Azachrysen^{3, 4, 5)} fast überein und wurde mit dem nach unten kurz gezeigten Reaktionsreihen in guter Ausbeute erhaltenen 1-Azachrysen durch den Vergleich des UV-Absorptionsspektrums sowie durch die Mischprobe des Pikrates identifiziert.

Die freien Basen aus den Pikraten von Nr. 3 bis Nr. 7 zeigen die UV-Absorptionsspektren, die mit demselben von Benzo[*f*]chinolin sehr ähnlich sind, abgesehen von ihren Absorptionsmaxima, die ein wenig in längeren Wellenbereichen verschoben sind. Daher habe ich ihnen die Formeln wie (IX) oder (X) zugeschrieben.

- 2) Zur Diskussion dieser Frage danke ich Herrn Dr. M. Tanabe des Riker Laboratoriums z. Z. in unserem Institut.
- 3) Mosettig, *et al.*: J. Org. Chem., **3**, 325(1938).
- 4) Kaufmann: J. Am. Chem. Soc., **73**, 1779(1951).
- 5) Johnson, *et al.*: J. Am. Chem. Soc., **69**, 569(1947).

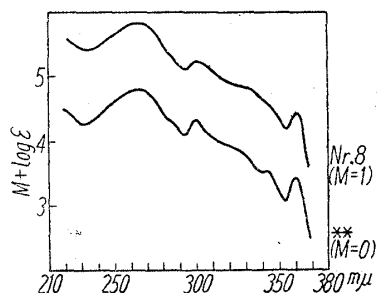


Fig. 1.

Lösungsmittel: Äthanol

** Synthetische Präparat

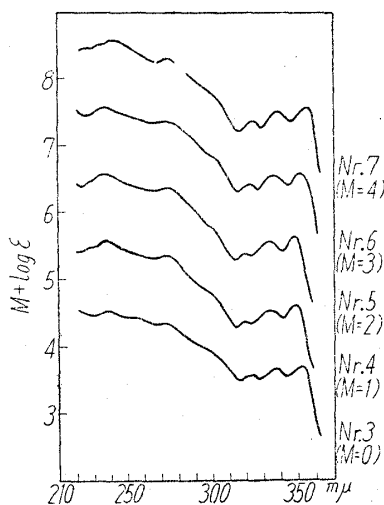


Fig. 2.

Lösungsmittel: Äthanol

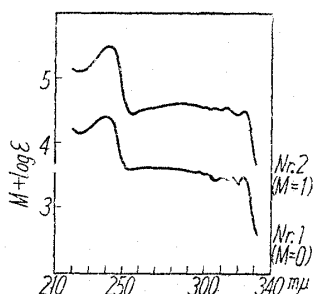
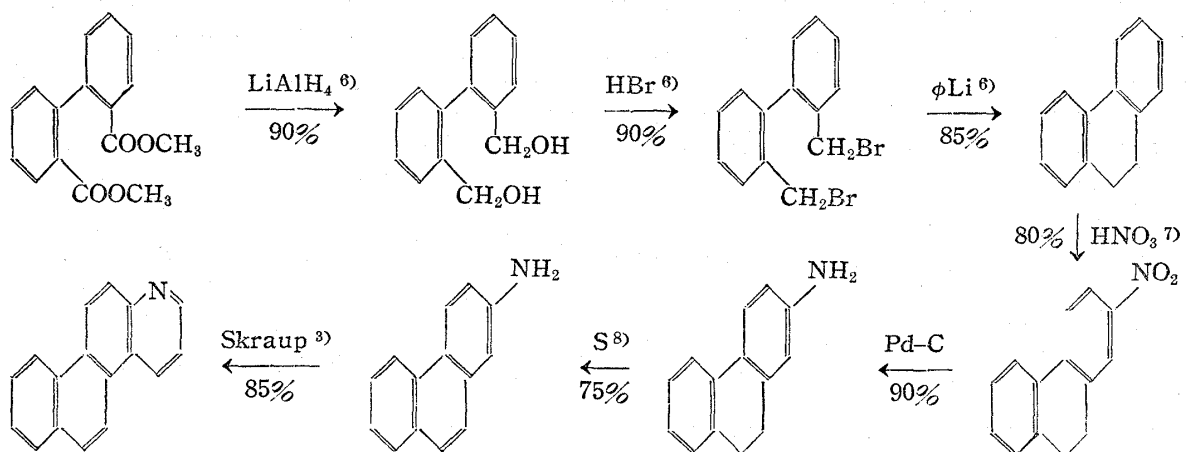


Fig. 3.

Lösungsmittel: Äthanol

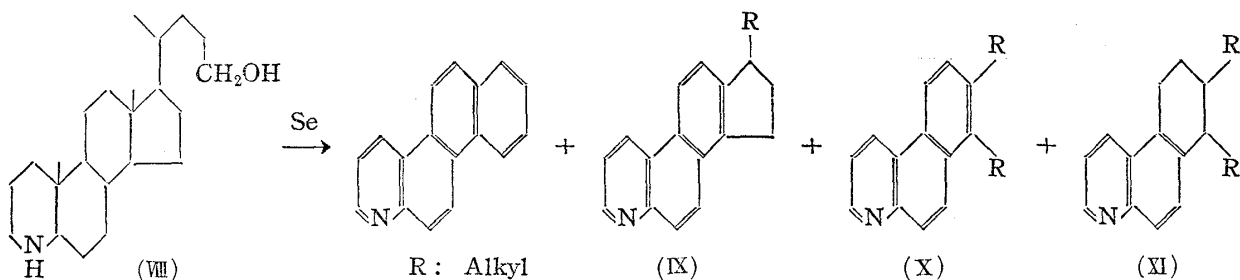
TABELLE I.

Pikrat Nr.	Eigenschaft	Pikrat Nr.	Eigenschaft
1	Prism. Nadeln, Schmp. 188~190°	5	Nadeln, Schmp. 230~233
2	Prismen, Schmp. 173~175°	6	" 243~246°
3	" 209~212°	7	" 270~273°
4	Nadeln, Schmp. 219~222°	8	Prismen, Schmp. 269~273°



Die UV-Absorptionsspektren der freien Basen aus den Pikraten von Nr. 1 und 2 sind mit demselben von Alkylchinolin sehr ähnlich, ausgenommen, dass ihre Absorptionsmaxima etwas bathochromischer liegen. So habe ich ihnen die Alkylchinolin-Formel wie (XI) zugeschrieben.

6) Turner, *et al.*: J. Chem. Soc., 1950, 711.7) Mosettig, *et al.*: J. Org. Chem., 3, 340 (1938).8) Riegel, *et al.*: J. Am. Chem. Soc., 64, 2221 (1942).



Schmp. 184~186°), die nach Wieland¹¹⁾ aus 3-Keto-A-norcholansäure durch Oxydation mit KMnO_4 hergestellt wurde, schmolz bei 182~185°.

Oxim: Prismen vom Schmp. 196~197° (u. schäumen) aus Aceton. Eine Mischprobe mit dem Oxim obiger Ketodicarbonsäure (Prismen vom Schmp. 200~202° u. Schäumen) schmolz bei 197~199° (u. Schäumen). $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{O}_5\text{N}$ -Ber.: C, 67.7; H, 9.1; N, 3.5. Gef.: C, 67.04; H, 8.82; N, 3.47.

Selen-Dehydrierung des 24-Oxy-A-azacholan-Derivates aus Lactam-A—4.6 g 24-Oxy-A-azacholan-Derivat (VIII) wurden mit 7 g pulverisiertem Se (aus SeO_2 frisch bereitet) innig gemischt und auf dem Metallbade erhitzt. Die Reaktionstemperatur wurde dabei zuerst innerhalb von 4 Stunden auf 360° erhöht und nach 4 stündigem Erhitzen auf 360~380° noch 2 g pulverisiertes Se hinzugefügt und weitere 12 Stunden auf 380~400° erhitzt, wobei die Entwicklung von H_2Se fast beendet war. Die Reaktionsmasse wurde zerkleinert, mit Benzol erschöpfend extrahiert und 800 mg öliges Extrakt erhalten. Der letztere wurde zuerst im Vakuum von 4~5 mm Hg-Druck bei Badetemperatur 125~280°, dann im Vakuum von 0.002 mm Hg-Druck bis auf 310° (Badetemperatur) destilliert, und insgesamt 690 mg Destillat erhalten. Der Kolben-Rückstand betrug 100 mg (in 10%iger HCl unlöslich). Das Destillat wurde nun in Benzol gelöst und chromatographisch gereinigt.

Chrm. Nr. 1. Probe: 690 mg. Al_2O_3 : 60 ccm. Entwickler: je 20 ccm Benzol, CHCl_3 -Benzol mit steigender CHCl_3 -Konzentration und schliesslich mit Aceton-MeOH. Jede Fraktion wurde durch Behandeln mit 10%iger HCl in einen basischen und neutralen Teil getrennt.

Frkt. Nr.	Frkt.	mg	Basischer T. mg	neutraler T. mg
1~5	Benzol-Frkt.-I	567	65	500
6~13	" -II	55		
14~24	" -III	33		
25~41	Benzol- CHCl_3 -Frkt.	11	11 (Krist.)	0
42~45	Aceton-Methanol-Frkt.	10	0	10

Die UV-Spektren der Frkt. 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 29 und 33 sind in der Fig. 4 angegeben.

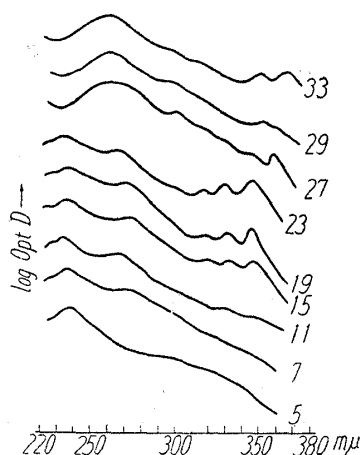


Fig. 4.

Lösungsmittel: Äthanol

Der basische Teil der Benzol-Frkt. I und II (65 mg) wurde in Benzol-Benzin (1:5) gelöst und nochmals chromatographiert (Chrm. Nr. 2).

Chrm. Nr. 2. Probe 65 mg. Al_2O_3 : 30 ccm. Entwickler: Benzol-Benzin, Benzol und CHCl_3 .

Frkt. Nr.	Frkt.	mg	Notiz
1~5	Benzol-Benzin (1:5) I	11	Blättchen
6	" (1.5:5) II	7	"
7~9	" (1.5:5) III	11	ölig
10~12	" (1.5:4) VI	10	"
13~14	" (1.5:3.5) V	4	"
15~16	" (1:2) VI	5	Blättchen
17~18	" (1:1) VII	4	ölig
19~20	" (2:1) VIII	3	"
21~25	Benzol IX	10	"
26~29	CHCl_3 X	spur	

Die UV-Spektren einiger Fraktionen sind in der Fig. 5 ersichtlich. Jede Fraktion wurde ins Pikrat übergeführt und durch Umkristallisieren aus MeOH gereinigt.

11) Wieland, et al.: Z. physiol. Chem., **211**, 261 (1932).

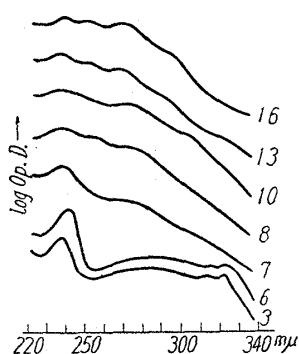


Fig. 5.

Lösungsmittel: Äthanol

Die Frkt. I gab 3 mg in prismatische Nadeln kristallisierendes Pikrat vom Schmp. 188~190° (Nr. 1). $C_{22}H_{20}O_7N_4$ —Ber.: C, 58.2; H, 4.9. $C_{21}H_{20}O_7N_4$ —Ber.: C, 57.3; H, 4.6. $C_{20}H_{18}O_7N_4$ —Ber.: C, 56.3; H, 4.2. Gef.: C, 56.55; H, 4.66. Die UV-Spektren der freien Base: λ_{max} 240, 310 und 324 m μ .

Die Frkt. II gab prismatisches Pikrat (3 mg) (Nr. 2) vom Schmp. 173~175°. Eine Mischprobe mit dem Pikrat Nr. 1 zeigte Depression. Gef.: C, 56.57; H, 4.64. Die UV-Spektren der freien Base: λ_{max} 243, 312, und 326 m μ .

Von der Frkt. III und VI wurden 3 mg prismatisches Pikrat vom Schmp. 198~204° erhalten, welches jedoch noch nicht ganz rein ist.

Die Frkt. VII~IX gaben noch unreines prismatisches Pikrat vom Schmp. 228~232° (2 mg).

Chrmt. Nr. 3. Probe: Benzol-Frkt. III von Chrmt. Nr. 1, 33 mg. Al_2O_3 : 27 ccm. Entwickler: Benzol.

Frkt. Nr.	Frkt.	mg	Notiz
1~5	I	spur	ölig
6	II	8	"
7	III	7	"
8	IV	5	Blättchen
9	V	7	ölig
10~12	VI	4, 5	Blättchen
13~16	VII	1	ölig
17~21 (CHCl ₃)	VIII	spur	"

Die Frkt. II gab 1 mg prismatisches Pikrat vom Schmp. 209~212° (aus MeOH) (Nr. 3). Die UV-Spektren der freien Base: λ_{max} 240, 272, 324, 338 und 355 m μ .

Aus der Frkt. III wurden 3 mg nadelförmiges Pikrat vom Schmp. 219~222° (aus MeOH) (Nr. 4) erhalten. $C_{25}H_{22}O_7N_4$ —Ber.: C, 61.2; H, 4.5; N, 11.4. $C_{23}H_{18}O_7N_4$ —Ber.: C, 59.7; H, 3.9; N, 12.1. $C_{22}H_{16}O_7N_4$ —Ber.: C, 58.9; H, 3.6; N, 12.5. $C_{23}H_{20}O_7N_4$ —Ber.: C, 59.5; H, 4.3; N, 12.1. $C_{22}H_{18}O_7N_4$ —Ber.: C, 58.7; H, 4.0; N, 12.4. $C_{21}H_{16}O_7N_4$ —Ber.: C, 57.8; H, 3.7; N, 12.9. Gef.: C, 59.49; H, 4.21. Die UV-Spektren der freien Base: λ_{max} 238, 271, 319, 334 und 349 m μ .

Die Frkt. IV gab 4 mg nadelförmiges Pikrat vom Schmp. 230~233° (aus MeOH) (Nr. 5). Gef.: C, 61.06; H, 3.84; N, 11.84. Die UV-Spektren: λ_{max} 238, 274, 318, 333 und 349 m μ .

Die Frkt. V gab 4 mg nadelförmiges Pikrat vom Schmp. 243~246° (aus MeOH) (Nr. 6). Gef.: C, 58.01; H, 3.85. Die UV-Spektren: λ_{max} 237, 272, 322, 333 und 349 m μ .

Die Frkt. VI gab 3 mg nadelförmiges Pikrat vom Schmp. 270~273° (aus MeOH) (Nr. 7). Gef.: C, 57.78; H, 4.26. Die UV-Spektren: λ_{max} 240, 272, 324, 338 und 355 m μ .

Eine Mischprobe von Pikraten Nr. 3 u. 4, 4 u. 5, 5 u. 6 bzw. 6 u. 7 zeigte Depression.

Chrmt. Nr. 4. Probe: Benzol-CHCl₃-Frkt. von Chrmt. Nr. 1 (11 mg). Al_2O_3 : 20 ccm. Lösungsmittel: Benzol-CHCl₃ (1:1). Entwickler: Benzol-CHCl₃ (1:1).

Frkt. Nr.	Frkt.	mg	Notiz
3~5	I	1	ölig
6~10	II	8	kristallinisch
11~17	III	1.5	"
18~20 (MeOH-CHCl ₃ 1:1)		spur	

Die Frkt. II wurde unter 0.002 mm Hg-Druck sublimiert und in 3 Teile getrennt.

Frkt. a. 120~150° (Badetemp.),	1 mg	ölig.
Frkt. b. 150° (Badetemp.),	3 mg	gelbes Blättchen.
Frkt. c. 150~190° (Badetemp.),	2 mg	kristallinisch.

Die Frkt. b. wurde durch Sublimieren im Vakuum (0.002 mm Hg-Druck) in weitere 3 Teile getrennt.

Frkt. b ₁ 120~150° (Badetemp.)	spur	amorph
Frkt. b ₂ 150° (Badetemp.)	1 mg	gelbes Blättchen
Frkt. b ₃ 150~180° (Badetemp.)	2 mg	kristallinisch

Die Frkt. b₃ wurde nochmals im Vakuum (0.002 mm Hg-Druck) sublimiert und in 3 Teile getrennt.

Frkt. b _{3,1} 120~150° (Badetemp.)	spur	amorph
Frkt. b _{3,2} 150° (Badetemp.)	1 mg	prismatische Nadeln
Frkt. b _{3,3} 150~200° (Badetemp.)	1 mg	prismatische Nadeln

Die Frkt. b₂, b_{3,2} und b_{3,3} wurden in das Pikrat übergeführt und je aus Chloroform umkristallisiert. Die Pikrate aus b_{3,2} und b_{3,3} sind schwer zu reinigen und zeigten den Schmp. 252~260°. Das Pikrat aus Frkt. b₂ (Nr. 8) bildete Prismen vom Schmp. 269~273°, welche bei einer Mischprobe mit dem Pikrat vom nach Mosettig⁷⁾ hergestellten 1-Azachrysen (Schuppen, Schmp. 276~279°) bei 273° schmolzen. Die UV-Spektren der freien Base stimmten mit denen des 1-Azachrysen fast überein, wie in der Tabelle II vergleichend zusammengestellt wurden.

TABELLE II.

Synthetisches Präparat				aus Pikrat Nr. 8	
Johnson, <i>et al.</i> ⁵⁾		Hara			
λ_{max}	$\log \epsilon$	λ_{max}	$\log \epsilon$	λ_{max}	$\log \epsilon$
263	4.9	266	4.8	365	4.8
298	4.3	299	4.35	300	4.2
359	3.35	361	3.45	361	3.4
λ_{min}	$\log \epsilon$	λ_{min}	$\log \epsilon$	λ_{min}	$\log \epsilon$
230	4.3	230	4.25	233	4.35
293	4.1	294	4.1	294	4.1
353	3.0	355	3.0	355	3.15

Zusammenfassung

Die Konstitutionsermittlung der vier Lactame A, B, C und D, die in der vorliegenden Mitteilung beschrieben sind, wurde ausgeführt. Hiermit wurde das Lactam-C als das 4-Aza-A-homocholanderivat und das Lactam-A als das 4-Azacholanderivat festgestellt. Infolgedessen stellt das Lactam-B bzw. -D je das entsprechende 3-Azaderivat dar.

(Eingegangen am 19. Mai, 1955)

61. Takeichi Sakaguchi and Kiyomi Taguchi: Colorimetric Determination of Aureomycin in Biological Materials by Butanol-Thorium Extraction Method.

(Pharmaceutical Faculty, University of Chiba*)

In earlier paper by the present authors,^{1,2)} a sensitive colorimetric determination of Aureomycin based on chelate formation with thorium(IV) was described.

This colorimetric method, however, is subject, in varying degrees, to interfering substances normally present in biological fluids. Consequently, the antibiotic must be separated from biological materials by extraction or absorption,³⁾ prior to its colorimetric determination. The method described here effects the extraction, based upon the solubility of Aureomycin Hydrochloride in butanol, of its thorium chelate in water, and on

* Inohana-cho, Chiba (坂口武一, 田口清水).

1) M. Ishidate, T. Sakaguchi: This Bulletin, **3**, 145 (1955).

2) T. Sakaguchi, T. Taguchi: *Ibid.*, **3**, 166 (1955).

3) Saltzman: J. Lab. Clin. Med., **35**, 123 (1950).