

Partialsynthese von (25*R*)-26-Amincholesterol und (25*R*)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol aus Diosgenin¹⁾

Rudolf Tschesche* und Heinz Rainer Brennecke

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn,
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn 1

Eingegangen am 23. Oktober 1978

Diosgenin-acetat (**1b**) wurde über (25*R*)-5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol (**2a**) zu (25*R*)-5-Cholesten-3 β ,26-diol (**4a**) umgesetzt. Aus **4a** und **2a** wurden (25*R*)-26-Amincholesterol (**5d**) und (25*R*)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6e**) über die Tosyl-, Iod- und Phthalimido-Derivate dargestellt. Selektive Acetylierung von **5d** und **6e** ergab die 26-(Acetylamino)cholesterole **5e** und **6f**. Die Massenspektren der Amino- und (Acetylamino)cholesterole werden diskutiert.

Partial Synthesis of (25*R*)-26-Amincholesterol and (25*R*)-26-Amino-5-cholestene-3 β ,16 β -diol from Diosgenin¹⁾

Diosgenin acetate (**1b**) was converted *via* (25*R*)-5-cholestene-3 β ,16 β ,26-triol (**2a**) to (25*R*)-5-cholestene-3 β ,26-diol (**4a**). From **4a** and **2a** (25*R*)-26-amincholesterol (**5d**) and (25*R*)-26-amino-5-cholestene-3 β ,16 β -diol (**6e**) were prepared *via* the tosyl-, iodo-, and phthalimido derivatives. Selective acetylation of **5d** and **6e** yielded the 26-(acetylamino)cholesterols **5e** and **6f**. The mass spectra of the amino- and (acetylamino)cholesterols are discussed.

Im Rahmen unserer Untersuchungen zur Biosynthese von Steroidderivaten im Pflanzenreich^{2–6)} benötigten wir (25*R*)-26-Amincholesterol (**5d**), (25*R*)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6e**) und (25*R*)-26-Hydroxy-4-cholesten-3-on (**7a**). Für die Untersuchungen war eine Markierung der Verbindungen mit Tritium vorgesehen.

Die Überlegungen zur Synthese des für die Darstellung von **5d** und **7a** zentralen Zwischenproduktes (25*R*)-5-Cholesten-3 β ,26-diol (**4a**) ergaben, daß die bekannten Synthesewege wegen Mangel an Ausgangsmaterial (Kryptogenin)⁷⁾ bzw. wegen Bildung der 25*R,S*-Isomeren^{8–10)} und der damit verbundenen aufwendigen Epimerentrennung nicht in Frage kamen. Die Synthese wurde daher auf dem nachfolgend beschriebenen Weg durchgeführt.

1. Synthesen

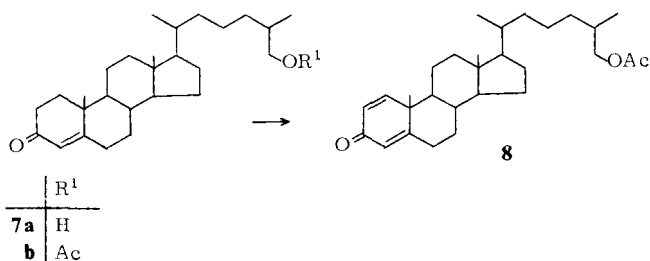
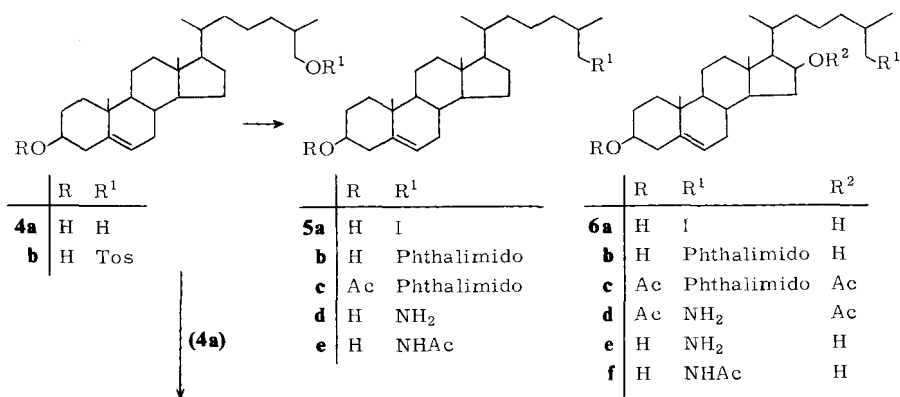
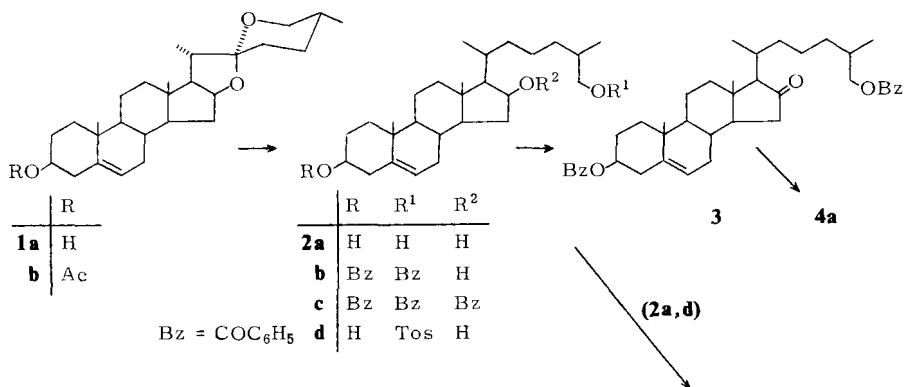
a) (25*R*)-5-Cholesten-3 β ,26-diol (**4a**)

Handelsübliches Diosgenin (**1a**) (25*R*-Konfiguration) diente als Ausgangsmaterial der Synthese und wurde zur Abtrennung unerwünschter Verunreinigungen [Yamogenin (25*S*-Konfiguration)] acetyliert¹¹⁾.

Diosgeninacetat (**1b**) lieferte nach Clemmensen-Reduktion 5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol (**2a**)¹²⁾ mit 34% Ausbeute. Obgleich beträchtliche Mengen **1a** (ca. 30%) – neben

wenig **1b** – unverändert zurückblieben, wurde die Reaktion nach einer Stunde abgebrochen und neutralisiert, da sich das gebildete **2a** zersetzte.

Da die 16 β -Hydroxylgruppe in **2a** durch die Seitenkette räumlich abgeschirmt und damit reaktiv benachteiligt ist, gelang bei Zugabe von zwei Äquivalenten Benzoylchlorid eine selektive Veresterung der Hydroxylgruppen an C-3 und C-26 (**2b**). Das Tribenzoat **2c** bildete sich erst bei höherer Dosierung des Säurechlorids. Die Oxidation des Dibenzoats **2b** mit dem Chromtrioxid-Pyridinkomplex¹³⁾ ergab die Ketoverbindung **3** in 85proz. Ausbeute. Die Ketogruppe wurde unter gleichzeitiger Verseifung der Estergruppen



nach der Wolff-Kishner-Reaktion (Huang-Minlon-Variante)⁷⁾ reduziert. Die säulen-chromatographische Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel lieferte 5-Cholesten-3 β ,26-diol (**4a**). Eine eindeutige Zuordnung von **4a** zur 25*R*-Konfiguration konnte nach Vergleich des Schmelzpunktes und des spezifischen Drehwertes mit den in der Literatur angegebenen Daten für (25*R*)-^{7,10)} und (25*RS*)-5-Cholesten-3 β ,26-diol⁸⁻¹⁰⁾ nicht getroffen werden.

Da unter den stark sauren Bedingungen der Clemmensen-Reaktion aufgrund früherer Beobachtungen^{14,15)} eine Isomerisierung an C-25 nicht ausgeschlossen werden konnte, wurde mit einem Einkristall aus dem homogenen Kristallisat von **4a** eine Röntgen-strukturanalyse durchgeführt¹⁶⁾, die eine *R*-Konfiguration an C-25 ergab. Spuren der 25*S*-Form wurden nicht gefunden. Die beschriebenen Substanzen besitzen somit alle 25*R*-Konfiguration.

b) (25*R*)-26-Hydroxy-4-cholesten-3-on (**7a**)

7a wurde durch Oppenauer-Oxidation¹⁷⁾ aus **4a** dargestellt. Obgleich die Hydroxylgruppe an C-26 nicht geschützt wurde, betrug die Ausbeute 57%. Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten gut mit den in der Literatur^{10,18)} angegebenen Werten überein.

Die Tritiummarkierung von **7a** erfolgte nach Acetylierung (**7b**) und Dehydrogenierung mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyanbenzochinon (DDQ)¹⁹⁾ zu **8** durch Absättigung der Δ^1 -Doppelbindung mit Tritiumgas in homogener Katalyse²⁰⁾. Verseifung mit 5proz. methanolischer Kalilauge ergab [1α -³H]-**7a**, da das Tritium an C-2 ausgetauscht wird²¹⁾.

c) (25*R*)-26-Aminocholesterole **5d** und **6e**

5d und **6e** wurden in Analogie zu einer von Uhle²²⁾ entwickelten Methode dargestellt. Die nucleophile Substitution der 26-Hydroxylgruppe gegen eine Aminogruppe erfolgte über die Tosyl-, Iod- und Phthalimido-Derivate.

Die 26-Monotosylate **4b** und **2d** wurden nach Veresterung der Alkohole **4a** und **2a** mit *p*-Toluolsulfonylchlorid – die entstehenden Produkte wurden nicht isoliert – und anschließender selektiver Verseifung in wäßrigem Aceton (3:7) in hohen Ausbeuten (ca. 88%) erhalten. Die vollständige Hydrolyse der 3 β -Tosylgruppen erforderte, im Gegensatz zu Uhles Angaben²³⁾ (1.5 h), ein 20- bis 24-stündiges Kochen unter Rückfluß. Durch Zugabe einer katalytischen Menge Schwefelsäure konnte die Reaktionszeit auf 5 h verkürzt werden.

Die nucleophile Substitution der 26-Tosylgruppe in **4b** und **2d** durch Iodid in 2-Butanon lieferte **5a** und **6a** in guten Ausbeuten (>90%). Nach Einführung des Stickstoffs durch Gabriel-Synthese²⁴⁾ wurden die entstandenen Phthalimide **5b** und **6b** von den unumgesetzten Edukten **5a** bzw. **6a** durch präparative Schichtchromatographie abgetrennt. Die Ausbeuten lagen jeweils über 80%; es konnten ca. 15% der Ausgangsprodukte zurückgewonnen werden.

Im Hinblick auf die spätere Markierung mit Tritium wurden **5b** und **6b** zu **5c** und **6c** acetyliert. Die Hydrazinolyse des Phthalimidodiacetats **6c** ergab die Aminoverbindung **6d**, die nach Verseifung das gewünschte (25*R*)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6e**) lieferte. (25*R*)-26-Aminocholesterol (**5d**) wurde nach Hydrazinolyse von **5b** erhalten. Da sich die 26-Aminocholesterole **5d** und **6e** bei Luftwirkung innerhalb weniger

Tage gelb verfärbten, wurden sie mit Acetanhydrid in Methanol selektiv zu den 26-(Acetylamino)cholesterolen **5e** und **6f** umgesetzt.

Die Konstitution der dargestellten Verbindungen wurde durch spektroskopische Daten (IR, ^1H -NMR, MS) sowie Elementaranalyse bzw. Massenfeybestimmungen gesichert (vgl. exp. Teil).

Die Einführung des Tritiums in **5d** und **6e** erfolgte nach der Methode von Gut und Uskoković²⁵⁾ in 7 α -Position. Bromierung der acetylierten Phthalimide **5c** und **6c** mit *N*-Bromsuccinimid, Brom-Tritium-Austausch in heterogener Phase (5% Pd/CaCO₃), Hydrazinolyse, Verseifung und chromatographische Reinigung ergaben [7α - ^3H]-**5d** und [7α - ^3H]-**6e**, die an *Solanum laciniatum* appliziert wurden²⁶⁾.

2. Massenspektren

In den Massenspektren der 26-Amincholesterole **5d** und **6e**²⁹⁾ treten die charakteristischen Hauptfragmente *N*-freier Cholesterol-Derivate mit nur sehr geringer Intensität oder überhaupt nicht auf. So z. B. fehlen die Peaks $M^+ - 85$ und $M^+ - 111$. Die für aliphatische Amine charakteristischen Peaks bei $m/e = 30$ ($\text{CH}_2=\text{NH}_2^+$, α -Spaltung) und 100 ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}^+$, ϵ -Spaltung)^{27, 28)} erscheinen in beiden Spektren mit großer Intensität. Sie stehen mit den IR- und ^1H -NMR-Daten im Einklang und stützen die Konstitution von **5d** und **6e**.

Im Gegensatz zu **5d** erscheint im Spektrum von **6e** ein *nicht* erwartetes Fragment bei $m/e = 142$ (Basispeak: $\text{C}_9\text{H}_{20}\text{N}^+$). Unerwartet ist auch, daß das Molekül-Ion von **6e** ($m/e = 417$) vorwiegend Kohlenmonoxid ($m/e = 389$) abspaltet. Der Verlust von Ammoniak ($m/e = 400$) ist dagegen unbedeutend, und eine Abspaltung von zwei Molekülen Wasser erfolgt nicht (Hochauflösung). Im Gegensatz dazu spaltet das Molekül-Ion von **5d** ($m/e = 401$) bevorzugt Ammoniak ($m/e = 384$) sowie Wasser und eine Methylgruppe ($m/e = 368$) ab (vgl. exp. Teil). Auch im Spektrum der Acetylaminoverbindung **6f** tritt das um 42 Masseneinheiten nach $m/e = 184$ (Basispeak: $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{NO}^+$) verschobene Fragment auf. Bei der 16 β -Acetoxyverbindung **6d** wurde ein entsprechendes Fragment hingegen nicht gefunden. Aufgrund dieser Befunde führen wir die gegenüber **5d** unerwartete und komplexe Fragmentierung von **6e** auf den Einfluß der 16 β -OH-Gruppe (Nachbargruppeneffekt) zurück.

In den Spektren der 26-(Acetylamino)cholesterole **5e** und **6f**²⁹⁾ weisen die Peaks bei $m/e = 72$ ($\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}^+$), 60 ($\text{C}_2\text{H}_6\text{NO}^+$), 43 ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$) und 30 ($\text{CH}_2=\text{NH}_2^+$) auf eine Acetylaminogruppierung hin²⁸⁾. Das Molekül-Ion von **5e** ($m/e = 443$) spaltet vorwiegend Wasser ($m/e = 425$) sowie Wasser und eine Methylgruppe ($m/e = 410$) ab. Analog dazu, aber im Gegensatz zum freien Amin **6e**, tritt im Spektrum von **6f** ein vorherrschender Verlust von zwei Molekülen Wasser ($m/e = 423$) sowie von zwei Molekülen Wasser und einer Methylgruppe ($m/e = 408$) auf. Die Eliminierung von Kohlenmonoxid und Wasser ($m/e = 413$) ist hier klar zurückgedrängt (vgl. exp. Teil).

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Friedrich-Ebert-Stiftung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte (unkorrigiert): Mikroskop-Heiztisch nach Weygand der Fa. Leitz. — Optische Drehwerte: Perkin-Elmer-Polarimeter 141. — IR-Spektren: Perkin-Elmer-Spektrometer 157 G. — UV-Spektren: Cary 15 (Applied Physics Corporation). — NMR-Spektren: Varian EM 360 und Bruker WH 90, TMS intern. [Die C-18- und C-19-Methylresonanzen werden nicht angegeben, da sie sich innerhalb der 3 β ,26-Diol-Reihe (18-CH₃: δ = 0.67–0.68; 19-CH₃: 1.01–1.02) sowie der 3 β ,16 β ,26-Triol-Reihe (18-CH₃: 0.87–0.89; 19-CH₃: 1.01–1.02) praktisch nicht veränderten. Auf die Angabe der C-21- und C-27-Methylresonanzen wurde verzichtet, da eine eindeutige Zuordnung oft nicht möglich war]. — Massenspektren: MS 9, MS 30 und MS 50/DS 50 (A. E. I.), Direkteinlaßverfahren, 70 eV, i. a. 150–180°C. — Elementaranalysen: Perkin-Elmer-Elemental Analyzer 240.

Dünnschichtchromatographie: Kieselgel G der Fa. Schleicher & Schüll oder Merck. Die Sichtbarmachung erfolgte durch Ansprühen mit Chlorsulfonsäure/Eisessig (1:1), Vanillin/Phosphorsäure oder Antimontrichlorid/Chloroform und kurzzeitigem Erhitzen auf 130°C. — Präp. Schichtchromatographie (PSC): Kieselgel 60 PF₂₅₄ oder 60 PF₂₅₄₊₃₆₆ der Fa. Merck. Die Lokalisierung erfolgte durch UV-Licht oder Anfärbung eines schmalen Randstreifens. — Säulenchromatographie: Kieselgel der Fa. Woelm (Korngröße 0.063–0.1 mm).

Laufmittelsysteme: A Chloroform/NH₃ gesätt., B Dichlormethan/Methanol (95:5), C Cyclohexan/Essigester (7:3), D Cyclohexan/Essigester (85:15), E Cyclohexan/Essigester (31:9), F Chloroform/Ethanol (93:7), F₁ Chloroform/Ethanol/25proz. Ammoniak (93:7:1), F₂ Chloroform/Ethanol/25proz. Ammoniak (85:14:1), G₁ Dichlormethan/Aceton (100:1), G₂ Dichlormethan/Aceton (33:1), G₃ Dichlormethan/Aceton (9:1), G₄ Dichlormethan/Aceton (4:1).

(25R)-5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol (**2a**) wurde mit leichten Abwandlungen der Literaturvorschrift¹²⁾ dargestellt: Die Lösung von 22.8 g (50 mmol) Diosgeninacetat (**1b**) in 2.5 l Ethanol wurde zu 660 g frisch bereitetem Zinkamalgam³⁰⁾ gegeben. Unter Rückflußkochen wurden innerhalb von 1.5 h 600 ml konz. Salzsäure zugetropft. Die Wärmezufuhr wurde 30 min später entfernt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert, filtriert und der Alkohol i. Vak. abgedampft. Die wäßrige Phase mit dem ausgefallenen Bodenkörper wurde schwach angesäuert und filtriert. Der Rückstand wurde nach Waschen in Ethanol aufgenommen und mehrfach aus Essigester umkristallisiert: 2.3 g **2a**. Die Auftrennung der Mutterlaugen durch PSC (System G₃) lieferte weitere 4.8 g **2a**. Später erwies es sich als einfacher, die Abtrennung der Nebenprodukte bei der Reinigung von **4a** vorzunehmen. Ausb. 7.1 g (34%) **2a** und 6.4 g (31%) **1a**. R_F 0.48 (System F), Schmp. 179–180°C (Lit.¹²⁾ 178–179°C), $[\alpha]_D^{21} = -4.6^\circ$ (c = 1.01, Methanol).

IR (KBr): 3330 cm⁻¹ (OH). — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.48 (verbr. d, J = 3 Hz, 2 H, CH₂-26), 3.50 (m, 1 H, 3 α -H), 4.34 (m, 1 H, 16 α -H), 5.36 (m, 1 H, 6-H). — MS (70 eV): m/e = 418 (M⁺, 9.6%), 400 (65.0), 385 (19.2), 382 (17.5), 367 (15.0), 289 (21.3), 271 (39.2).

C₂₇H₄₆O₃ (418.7) Ber. C 77.46 H 11.08 Gef. C 77.61 H 11.04

(25R)-5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol-3,26-dibenzoat (**2b**): Die Lösung von 6.7 g (16 mmol) **2a** in 300 ml wasserfreiem Pyridin wurde unter Rühren mit 3.7 ml (32 mmol) Benzoylchlorid versetzt. Nach DC-Überprüfung (System G₂) erfolgte nach 24 h eine weitere Zugabe von maximal 0.5 ml Benzoylchlorid (bei höherer Dosierung des Benzoylchlorids entstand das Tribenzoat **2c**). Die Lösung wurde noch 4 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Hydrolyse und 4maligem Ausschütteln mit Dichlormethan wurde die organische Phase eingengt und nach Zugabe von Toluol mehrmals i. Vak. bis zur Trockene abgedampft. Das Rohprodukt wurde aus Aceton umkristallisiert. Die Aufarbeitung der Mutterlauge erfolgte säulenchromatographisch. Ausb. 6.8 g (68%). R_F 0.52 (System G₂), Schmp. 153–154°C, $[\alpha]_D^{21} = -6.43^\circ$ (c = 1.1, CHCl₃).

IR (KBr): 3500 cm^{-1} (OH). — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 4.13 (m, 2H, CH_2 -26), 4.25 (m, 1H, 16 α -H), 4.81 (m, 1H, 3 α -H), 5.35 (d, 1H, 6-H), 7.37, 7.99 (je m, 4H/6H, Dibenzoat). — MS (70 eV): m/e = 626 (M^+ , <1.0%), 593 (<1), 504 (2.5), 486 (100), 471 (21.8), 382 (1.9).

$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_5$ (626.9) Ber. C 78.56 H 8.68 Gef. C 78.55 H 8.66

(25R)-5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol-tribenzoat (**2c**) wurde zu ca. 6% aus obigem Reaktionsansatz isoliert. R_F 0.73 (System G_2), Schmp. 165–167°C (Essigester) (Lit.¹²⁾ 166–167°C).

(25R)-3 β ,26-Dibenzoxyloxy-5-cholesten-16-on (**3**): 6.0 g (60 mmol) Chromtrioxid wurden unter Rühren und Kühlen zu 60 ml wasserfreiem Pyridin gegeben. Nach 15 min Rühren unter Feuchtigkeitsausschluß wurde die Lösung von 6.3 g (10 mmol) **2b** in 330 ml wasserfreiem Pyridin in einer Portion hinzugefügt. Am nächsten Tag wurde die Reaktionslösung filtriert und mehrfach mit Ether extrahiert. Die vereinigten etherischen Phasen wurden dreimal mit 5proz. Natronlauge und je einmal mit 5proz. Salzsäure, 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und gesätt. Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO_4 und Abdampfen des Ethers i. Vak. wurde aus Aceton umkristallisiert. Im IR-Spektrum war keine OH-Bande mehr vorhanden. Ausb. 5.8 g (85%), R_F 0.55 (System G_2), 0.30 (System G_1), Schmp. 129–131°C, $[\alpha]_{589}^{21}$ = -96.8° (c = 2.74, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 4.13 (m, 2H, CH_2 -26), 4.81 (m, 1H, 3 α -H), 5.35 (d, 1H, 6-H), 7.40, 7.96 (je m, 4H/6H, Dibenzoat). — MS (70 eV): m/e = 624 (M^+ , <1%), 609 (1.0), 502 (1.8), 487 (4.8), 380 (36.0), 365 (24.8), 255 (54.1, $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{O}$), 213 (50.3, $\text{C}_{16}\text{H}_{21}$).

$\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_5$ (624.9) Ber. C 78.81 H 8.39 Gef. C 79.18 H 8.41

(25R)-5-Cholesten-3 β ,26-diol (**4a**): Die Lösung von 5.3 g (8.5 mmol) **3**, 170 ml (1.28 mol) Triethylenglycol, 17 ml (527 mmol) 85proz. Hydrazinhydrat und 7.2 g Kaliumhydroxid wurde 30 min bei 150°C unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde ein Hydrazin-Wassergemisch abdestilliert, bis die Temp. auf 195°C anstieg. Bei dieser Temp. wurde die Reaktion 2 h — bis die N_2 -Entwicklung beendet war — gehalten. Nach dem Abkühlen wurde in 0.5 N HCl gegossen, mehrfach mit Dichlormethan ausgeschüttelt, über MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt und aus Essigester umkristallisiert: 2.8 g (82%), R_F 0.41 (System G_4), Schmp. 176–177°C (Lit.⁷⁾ 177–178°C), $[\alpha]_{589}^{20}$ = -34.96° (c = 0.512, CHCl_3) [Lit.¹⁰⁾ -33.5° (c = 1.5, CHCl_3); Lit.⁷⁾ -30°].

IR (KBr): 3265 cm^{-1} (freies OH). — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.58 (s, 2H, 3 β -OH, 26-OH), 3.44 (m, 2H, CH_2 -26), 3.51 (m, 1H, 3 α -H), 5.36 (m, 1H, 6-H). — MS (70 eV): m/e = 402 (M^+ , 86%), 387 (31), 384 (86), 369 (44), 317 (57), 291 (56).

$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_2$ (402.7) Ber. C 80.54 H 11.51 Gef. C 80.68 H 11.60

(25R)-5-Cholesten-3 β ,26-diol-26-tosylat (**4b**): Zu einer Lösung von 819 mg (2.04 mmol) **4a** in 25 ml Pyridin wurden unter Rühren bei 0°C 1.55 g (8.16 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid gegeben. Nach 20 h Rühren bei 0°C wurde die Reaktionslösung mit 80 ml Wasser versetzt und fünfmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 5proz. Salzsäure, 6proz. NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und im Rotationsverdampfer eingengt. Die Lösung des Rohprodukts in einer Mischung aus 137 ml Aceton, 59 ml Wasser und 4 ml 0.7 M H_2SO_4 wurde 5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abdampfen des Acetons wurde wie oben beschrieben aufgearbeitet. Reinigung über eine 200-g-Kieselgelsäule (Eluent: Dichlormethan/Aceton 100:2 bis 4:1) ergab eine farblose, amorphe Substanz (994 mg, 87.5%, bezogen auf **4a**). Umkristallisation aus Dichlormethan/Methanol lieferte feine, farblose Nadeln. R_F 0.48 (System G_2), Schmp. 137–139°C, $[\alpha]_{589}^{20}$ = -30.92° (c = 0.98, CHCl_3).

IR (KBr): 3465 (OH), 2935, 2855, 1595, 1456, 1358 (SO_2OR), 1188, 1175 (SO_2OR), 958, 935, 910, 778, 660 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.56 (verbr. s, 1H, 3 β -OH), 2.45 (s, 3H, Ar-CH_3), 3.51 (m, 1H, 3 α -H), 3.84 (m, 2H, CH_2 -26), 5.36 (verbr. d, 1H, 6-H), 7.34 + 7.80 (4H, Aryl-H). —

MS (70 eV): m/e = 556 (M^+ , 7.6%), 538 (29.0), 523 (5.0), 471 (2.7), 445 (9.0), 420 (51.0), 402 (32.0), 384 (50.0), 369 (26.0), 366 (19.0), 273 (40.0), 271 (54.0), 255 (45.0), 231 (32.0), 213 (51.0), 145 (62.0), 18 (100).

$C_{34}H_{52}O_4S$ (556.9) Ber. C 73.34 H 9.41 Gef. C 73.38 H 9.55

(25R)-26-Iod-5-cholesten-3 β -ol (**5a**): 861 mg (1.55 mmol) **4b** und 700 mg (4.65 mmol) Natriumiodid wurden in 5 ml Ethylmethylketon 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 80 ml Wasser wurde fünfmal mit Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Nach mehrmaliger Umkristallisation aus Methanol/Dichlormethan wurden aus dem gelbgefärbten Rohprodukt (710 mg, 98.5%) farblose Plättchen erhalten. R_F 0.65 (**5a**), 0.50 (**4b**) (System C), Schmp. 117–120°C. $[\alpha]_{D}^{20} = -37.06^\circ$ ($c = 0.408$, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3405 (OH), 2930, 2855, 1455, 1430, 1370, 1188, 1052, 1018, 950, 835, 795, 735 cm^{-1} . — 1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 1.59 (verbr. s, 1 H, 3 β -OH), 3.19 (m, 2 H, CH_2 -26), 3.51 (m, 1 H, 3 α -H), 5.36 (verbr. d, 1 H, 6-H). — MS (70 eV): m/e = 512 (M^+ , 77.0%), 497 (33.0), 494 (43.0), 479 (32.0), 427 (36.0), 401 (60.0), 384 (34.0), 273 (36.0), 271 (30.0), 231 (29.0), 213 (39.0), 55 (100), 41 (100).

$C_{27}H_{45}IO$ (512.6) Ber. C 63.27 H 8.85 Gef. C 62.86 H 8.88

(25R)-26-Phthalimido-5-cholesten-3 β -ol (**5b**): 687 mg (1.34 mmol) **5a** und 302 mg (1.63 mmol) Kaliumphthalimid wurden in 2 ml DMF 3 d bei Raumtemp. gerührt. Nach Verdünnen mit 50 ml 10proz. KCl-Lösung wurde das ausgefallene Produkt fünfmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und einrotiert. Nach Auftrennung des Rohproduktes über PSC-Platten im System C konnten 603 mg (84.7%) **5b** und 95 mg Ausgangssubstanz (**5a**) isoliert werden. **5b** kristallisierte aus Essigester in langen, farblosen Nadeln. R_F 0.54 (**5b**), 0.65 (**5a**) (System C), Schmp. 171–175°C. $[\alpha]_{D}^{20} = -15.93^\circ$ ($c = 0.948$, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3500 (OH), 2935, 2860, 1768 + 1708 (R_2N-COR), 1693, 1610, 1463, 1398, 1380, 1308, 1188, 1060, 910, 728 cm^{-1} . — 1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 1.58 (verbr. s, 1 H, 3 β -OH), 3.53 (m, 3 H, CH_2 -26 und 3 α -H), 5.36 (verbr. d, 1 H, 6-H), 7.80 (m, 4 H, Aryl-H). — MS (70 eV): m/e = 531 (M^+ , 7.6%), 513 (70.8), 498 (14.7), 446 (10.0), 420 (24.5), 392 (19.3), 273 (16.0), 255 (43.0), 231 (12.8), 213 (43.1), 160 (100), 145 (46.8). — Metastabiler Übergang: $m^* 483.44 \triangleq m/e 513 \rightarrow 498$.

$C_{35}H_{49}NO_3$ (531.8) Ber. C 79.05 H 9.29 N 2.63 Gef. C 79.29 H 9.36 N 2.64

(25R)-26-Phthalimido-5-cholesten-3 β -ol-acetat (**5c**): Die Lösung von 183 mg (0.344 mmol) **5b** in 10 ml Pyridin wurde mit 1 ml Acetanhydrid versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Nach Einengen der Lösung wurde mehrmals mit Toluol einrotiert, um Pyridin und Wasserreste azeotrop zu entfernen. Nach PSC (System D) Ausb. 176 mg (89%), aus Essigester/Methanol farblose Plättchen. R_F 0.54 (System D), Schmp. 112–116°C, $[\alpha]_{D}^{20} = -19.58^\circ$ ($c = 1.292$, $CHCl_3$).

IR (KBr): 2940, 2860, 1775 (R_2N-COR), 1730 (OAc), 1710 (R_2N-COR), 1610, 1465, 1398, 1380, 1308, 1250, 1030, 910, 728 cm^{-1} . — 1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 2.04 (s, 3 H, Ac), 3.54 (m, 2 H, CH_2 -26), 4.57 (m, 1 H, 3 α -H). — MS (70 eV): m/e = kein M^+ , 513 (96.6%), 498 (12.1), 392 (14.6), 255 (29.0), 213 (23.5), 160 (100).

(25R)-26-Amino-5-cholesten-3 β -ol (**5d**): Die Lösung von 161 mg (0.3 mmol) **5b** in 2 ml Dichlormethan und 2 ml Methanol wurde mit 0.2 ml (4 mmol) 85proz. Hydrazinhydrat versetzt und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Verdünnen mit 50 ml 10proz. Ammoniak und sechsmaliger Extraktion mit Ether wurden die vereinigten Etherphasen mit Wasser und 35proz. NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Umkristallisation aus Dichlormethan/Ether ergab ein farbloses Pulver, das sich innerhalb weniger Tage gelb verfärbte. Nach chromatographischer Auftrennung der Mutterlauge konnten insgesamt 108 mg (89%) **5d** isoliert werden. R_F 0.49 (System F₁), Schmp. 148–151°C, $[\alpha]_{D}^{20} = -30.36^\circ$ ($c = 0.896$, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3360 + 3290 (OH, NH₂), 2935, 2860, 1690, 1590 (NH₂), 1460, 1435, 1380 cm⁻¹. – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.54 (verbr. s, 3 β -OH, NH₂), 2.54 (m, 2H, CH₂-26), 3.52 (m, 1H, 3 α -H), 5.36 (verbr. d, 1H, 6-H). – MS (70 eV): m/e = 401 (M⁺, 7.8%), 386 (2.4), 384 (6.3), 383 (1.4), 368 (4.4), 366 (2.2), 271 (5.3), 255 (5.7), 213 (5.7), 100 (30.8), 55 (26.1), 30 (100).

C₂₇H₄₇NO Ber. 401.3652 Gef. 401.3646 (MS)

(25R)-26-Acetyl-amino-5-cholesten-3 β -ol (**5e**): Die Lösung von 38 mg (0.095 mmol) **5d** in 6 ml Methanol wurde mit 20 μ l (0.212 mmol) Acetanhydrid versetzt und 24 h bei Raumtemp. stehen gelassen. Das auskristallisierte Acetamid wurde aus Essigester umkristallisiert: 36 mg (86%) schuppenförmige farblose große Plättchen. R_F 0.66 (System B), Schmp. 192–194°C, $[\alpha]_{589}^{20}$ = –42.86° (c = 0.350, CHCl₃).

IR (KBr): 3550 (freies OH), 3320 (OH, NHAc), 3100 (NHAc), 2965, 2865, 1655 (Amid I), 1635, 1545 (Amid II), 1458, 1438, 1372, 1298, 1058, 950, 798 cm⁻¹. – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.60 (verbr. s, 1H, 3 β -OH), 1.99 (s, 3H, Ac), 3.12 (m, 2H, CH₂-26), 3.53 (m, 1H, 3 α -H), 5.36 (verbr. d, 1H, 6-H), 5.47 (m, 1H, NH). – MS (70 eV): m/e = 443 (M⁺, 3.6%), 441 (5.1), 425 (61.4), 410 (31.2), 304 (9.9), 271 (3.1), 255 (29.0), 213 (30.0), 198 (15.9), 170 (7.5), 72 (28.2), 60 (21.7), 43 (100), 30 (62.0).

(25R)-7 α -Brom-26-phthalimido-5-cholesten-3 β -ol-acetat (7 α -Brom-**5c**): Zu 29 mg (0.05 mmol) **5c** in 6 ml wasserfreiem CCl₄ wurden 10.7 mg (0.06 mmol) feingepulvertes *N*-Bromsuccinimid gegeben. Die Reaktion wurde unter starkem Rühren im 90°C heißen Ölbad durchgeführt und durch eine Spatelspitze Azobis(isobutyronitril) gestartet. Nach 3 min wurde abgekühlt, das Succinimid abfiltriert, das Filtrat eingengt und getrocknet. – ¹H-NMR (CDCl₃): 6-H δ = 5.37 (**5c**) \rightarrow 5.76 (7 α -Brom-**5c**).

5d aus 7 α -Brom-**5c**: Das ölige Rohprodukt 7 α -Brom-**5c** (32 mg) und 195 mg 5% Pd/CaCO₃ wurden in 5 ml absol. Essigester suspendiert und 6 h hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert, mit Essigester gewaschen und das Filtrat eingengt. Nach Hydrazinolyse, Verseifen und Reinigen zeigte das Produkt mit **5d** keine Schmelzpunktsdepression; Schmp. 148–151°C. Die Substanz war laut Massenspektrum mit **5d** identisch.

(25R)-26-Amino-[7 α -³H]cholesterol ([7 α -³H]-**5d**): Der Brom-Tritium-Austausch wurde mit 13 mg 7 α -Brom-**5c** von Amersham-Buchler unter den gleichen obigen Bedingungen durchgeführt. Das zurückgesandte Produktgemisch wurde nach Hydrazinolyse und Verseifung über PSC-Platten (System F₁) gereinigt. Die spezifische Aktivität betrug ca. $1.4 \cdot 10^{10}$ dpm/mg.

(25R)-5-Cholesten-3 β ,16 β ,26-triol-26-tosylat (**2d**): Zu einer Lösung von 836 mg (2 mmol) **2a** in 25 ml Pyridin wurden unter Rühren bei 0°C 2.3 g (12 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid gegeben. Nach 20 h Rühren bei 0°C wurde wie bei **4a** aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wurde in einer Mischung aus 137 ml Aceton, 59 ml Wasser und 4 ml 0.7 M H₂SO₄ 5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abdampfen des Acetons wurde das Hydrolyseprodukt nach der anfangs beschriebenen Methode aus der wäßrigen Phase isoliert. Die Säulenchromatographie des Rohproduktes lieferte 1012 mg (88.5%) **2d**, das aus Dichlormethan/Methanol umkristallisiert wurde. R_F 0.35 (System G₃), 0.54 (**2d**), 0.18 (**2a**) (System G₄), Schmp. 54.5°C, $[\alpha]_{589}^{21}$ = –26.03° (c = 1.026, CHCl₃).

IR (KBr): 3550 (freies OH), 3415 (OH), 2940, 2855, 1720, 1598, 1465, 1358 (SO₂OR), 1190, 1175 (SO₂OR), 1098, 1045, 960, 814, 668 cm⁻¹. – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (verbr. s, 3 β ,16 β -OH), 2.46 (s, 3H, Aryl-CH₃), 3.54 (m, 1H, 3 α -H), 3.87 (m, 2H, CH₂-26), 4.34 (m, 1H, 16 α -H), 5.36 (verbr. d, 1H, 6-H), 7.34 + 7.82 (4H, Aryl-H). – MS (70 eV): m/e = 572 (M⁺, 1.0%), 554 (3.7), 539 (4.4), 536 (3.7), 521 (2.6), 400 (10.2), 385 (45.6), 382 (11.6), 367 (11.6), 271 (100), 255 (33.5), 231 (5.6), 213 (12.1), 172 (34.4), 145 (19.1). Metastabile Übergänge: m^* 518.6 \rightarrow 554 \rightarrow 536, m^* 503.6 \rightarrow 539 \rightarrow 521, m^* 370.6 \rightarrow 400 \rightarrow 385, m^* 352.6 \rightarrow 382 \rightarrow 367.

C₃₄H₅₂O₅S (572.9) Ber. C 71.29 H 9.15 Gef. C 71.06 H 9.16

(25*R*)-26-Iod-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6a**): Die Lösung von 978 mg (1.71 mmol) **2d** und 772 mg Natriumiodid (5.13 mmol) in 5 ml Ethylmethylketon wurde 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 80 ml Wasser wurde fünfmal mit Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Aus dem gelben Rohprodukt wurden nach mehrmaliger Umkristallisation aus Essigester/n-Hexan und chromatographischer Aufarbeitung der Mutterlauge insgesamt 817 mg (90.5%) farblose, feine Nadeln erhalten. R_F 0.52 (System C), Schmp. 124–128°C, $[\alpha]_{589}^{20} = -23.58^\circ$ ($c = 1.018$, CHCl₃).

IR (KBr): 3400 (OH), 2935, 2855, 1465, 1375, 1310, 1192, 1047, 955, 712 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.51$ (verbr. s, OH), 3.20 (m, 2H, CH₂-26), 3.51 (m, 1H, 3 α -H), 4.34 (m, 1H, 16 α -H), 5.35 (verbr. d, 1H, 6-H). — MS (70 eV): $m/e = 528$ (M⁺, 90.1%), 513 (24.9), 510 (100), 495 (36.6), 492 (10.7), 477 (38.1), 443 (33.0), 417 (18.6), 399 (52.3), 386 (7.7), 385 (29.7), 271 (82.8), 253 (42.6), 232 (41.9), 213 (60.6), 145 (74.7), 127.9 (11.8).

C₂₇H₄₅IO₂ (528.2) Ber. C 61.36 H 8.58

Gef. C 60.53 H 8.62 Molmasse Ber. 528.2447 Gef. 528.2430 (MS)

(25*R*)-26-Phthalimido-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6b**): 797 mg (1.51 mmol) **6a** und 322 mg (1.74 mmol) Kaliumphthalimid wurden in 2 ml DMF 3 d bei Raumtemp. gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei **5a**. Die Auftrennung von End- und Ausgangsprodukt über PSC-Platten im System C lieferte 668 mg (81%) **6b** und 136 mg (16.5%) **6a**. **6b** kristallisierte aus Essigester in farblosen Plättchen. R_F 0.40 (**6b**), 0.52 (**6a**) (System C), Schmp. 108–110°C. $[\alpha]_{589}^{24} = -7.95^\circ$ ($c = 0.604$, CHCl₃).

IR (KBr): 3400 (OH), 2935, 2850, 1775 (R₂N–COR), 1710 (R₂N–COR), 1610, 1045, 956, 908, 720, 710 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.78$ (verbr. s, OH), 3.53 (m, 3H, CH₂-26 + 3 α -H), 4.37 (m, 1H, 16 α -H), 5.36 (verbr. d, 1H, 6-H), 7.80 (m, 4H, Aryl-H). — MS (70 eV): $m/e = 547$ (M⁺, 10.0%), 545 (6.7), 529 (26.9), 514 (6.8), 511 (51.5), 496 (36.1), 271 (31.1), 253 (23.5), 231 (5.9), 213 (18.4), 160 (100), 145 (23.8). C₃₅H₄₉NO₄ Ber. 547.3661, Gef. 547.3654 (MS).

(25*R*)-26-Phthalimido-5-cholesten-3 β ,16 β -diol-diacetat (**6c**): Die Lösung von 644 mg (1.18 mmol) **6b** in 20 ml Pyridin wurde mit 5 ml Acetanhydrid versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Nach Einengen der Lösung i. Vak. wurde mehrmals mit Toluol eingedampft, um Pyridin und Wasserreste azeotrop zu entfernen. Nach Säulenchromatographie (System D → C → E) Ausb. 628 mg (84.5%), aus Dichlormethan/Essigester farblose, feine Nadeln. R_F 0.60 (System E), Schmp. 136–139°C, $[\alpha]_{589}^{24} = +7.39^\circ$ ($c = 1.052$, CHCl₃).

IR (KBr): 2960, 2850, 1775 (R₂N–COR), 1728 (OAc), 1710 (R₂N–COR), 1478, 1448, 1405, 1390, 1375, 1325, 1260, 1200, 1120, 1098, 1055, 922, 805, 735, 725 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.99 + 2.02$ (s, 6H, Ac), 3.53 (m, 2H, CH₂-26), 4.62 (m, 1H, 3 α -H), 5.17 (m, 1H, 16 α -H), 5.37 (m, 1H, 6-H). — MS (70 eV): $m/e =$ kein M⁺, 571 (1.0%), 511 (66.3), 496 (57.1), 253 (100), 213 (16.7), 160 (78.9), 145 (28.3), 43 (77.8). Metastabile Übergänge: $m^* 481.4 \rightleftharpoons 511 \rightarrow 496$, $m^* 457.3 \rightleftharpoons 571 \rightarrow 511$.

C₃₉H₅₃NO₆ (631.8) Ber. C 74.14 H 8.45 N 2.22 Gef. C 75.18 H 8.72 N 2.21

(25*R*)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol-diacetat (**6d**): Die Lösung von 320 mg **6c** (0.51 mmol) in 5 ml Dichlormethan und 5 ml Methanol wurde mit 0.3 ml 85proz. Hydrazinhydrat (6 mmol) versetzt und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Verdünnen mit 80 ml 10proz. Ammoniak und sechsmaligem Extrahieren mit Ether wurden die vereinigten organischen Phasen mit Wasser und 35proz. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Die Auftrennung über PSC-Platten im System A ergab ein farbloses Pulver (214 mg, 84.5%), das sich innerhalb weniger Tage gelb verfärbte. R_F 0.50–0.75 (System A), Schmp. 160–163°C, $[\alpha]_{589}^{20} = +4.40^\circ$ ($c = 0.940$, CHCl₃).

IR (KBr): 3440 + 3195 (NH₂), 2935, 2850, 1738 (OAc), 1570 (NH₂), 1465, 1440, 1372, 1245, 1038, 900, 832, 798 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.01 + 2.03 (s, je 3 H, Ac), 2.16 (verbr. s, 2 H, NH₂), 2.56 (m, 2 H, CH₂-26), 4.59 (m, 1 H, 3 α -H), 5.21 (m, 1 H, 16 α -H), 5.36 (verbr. d, 1 H, 6-H). — MS (70 eV): m/e = 501 (M⁺, 25.0%), 458 (15.6), 441 (100), 426 (9.8), 424 (19.0), 398 (26.7), 381 (21.0), 366 (93.0), 364 (16.2), 253 (51.1), 145 (28.3), 100 (72.2), 43 (65.6). Metastabile Übergänge: m^* 388.2 \rightarrow 501 \rightarrow 441, m^* 329.2 \rightarrow 441 \rightarrow 381, m^* 303.8 \rightarrow 441 \rightarrow 366.

(25R)-26-Amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6e**): Die Lösung von 205 mg (0.408 mmol) **6d** in 30 ml 2.5proz. methanolischer Kalilauge wurde 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 50 ml Eiswasser wurde das Methanol abgezogen und die wäßrige Phase fünfmal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und 35proz. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Aus Dichlormethan/Methanol farbloses Pulver. Nach chromatographischer Aufarbeitung der Mutterlauge konnten insgesamt 146 mg (86%) **6e** isoliert werden. R_F 0.50 (System F₂), Schmp. 155–158°C, $[\alpha]_{589}^{20}$ = –10.96° (c = 0.892, CHCl₃/Methanol).

IR (KBr): 3380 (OH, NH₂), 2935, 2850, 1700, 1605 (NH₂), 1469, 1440, 1380 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃/CD₃OD): δ = 2.56 (m, 2 H, CH₂-26), 3.51 (m, 1 H, 3 α -H), 4.33 (m, 1 H, 16 α -H), 5.35 (verbr. d, 1 H, 6-H). — MS (70 eV): m/e = 417 (M⁺, 10.0%), 402 (1.7), 389 (8.1), 385 (2.3), 384 (1.5), 382 (0.9), 374 (0.8), 372 (1.0), 371 (1.8), 356 (3.2), 271 (3.6), 253 (2.0), 231 (1.0), 213 (2.9), 145 (8.0), 142 (100), 100 (16.0), 30 (94.0). C₂₉H₄₇NO₂ Ber. 417.3607, Gef. 417.3601; Massenfeinbestimmungen: C₉H₂₀N: Ber. 142.1595, Gef. 142.1601; C₆H₁₄N: Ber. 100.1126, Gef. 100.1126.

(25R)-26-Acetyl-amino-5-cholesten-3 β ,16 β -diol (**6f**): Die Lösung von 84 mg (0.201 mmol) **6e** in 15 ml Methanol wurde mit 50 μ l Acetanhydrid (0.529 mmol) versetzt und bei Raumtemp. stehengelassen. Nach 24 h war das Acetamid auskristallisiert. Umkristallisation aus Essigester lieferte 82 mg (88.6%) farblose feine Nadeln. R_F 0.62 (System F), Schmp. 183–185°C, $[\alpha]_{589}^{24}$ = –28.94° (c = 0.60, CHCl₃).

IR (KBr): 3670, 3625 (freies OH), 3420 (OH), 3350 (OH, NHAc), 3100 (NHAc), 2940, 2850, 1638 (Amid I), 1555 (Amid II), 1450, 1372, 1290, 1058, 1018, 955, 938, 830, 735 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.64 (verbr. s, OH), 1.98 (s, 3 H, Ac), 2.87 (m, 1 H, CH₂-26), 3.31 (m, 1 H, CH₂-26), 3.52 (m, 1 H, 3 α -H), 4.37 (m, 1 H, 16 α -H), 5.36 (verbr. d, 1 H, 6-H), 5.61 (m, 1 H, NH). — MS (70 eV): m/e = 459 (M⁺, 5.3%), 457 (4.3), 442 (3.6), 441 (5.8), 423 (58.9), 413 (6.2), 408 (60.3), 271 (36.1), 253 (55.9), 213 (12.9), 184 (100), 170 (25.6), 145 (19.9), 100 (11.5), 72 (46.7), 60 (27.2), 43 (22.9), 30 (94.8). Massenfeinbestimmungen: C₂₉H₄₉NO₃: Ber. 459.3713, Gef. 459.3690, C₁₁H₂₂NO: Ber. 184.1702, Gef. 184.1692, C₁₀H₂₀NO: Ber. 170.1545, Gef. 170.1546, C₃H₁₀NO: Ber. 100.0762, Gef. 100.0761, C₃H₆NO: Ber. 72.0449, Gef. 72.0431, C₂H₆NO: Ber. 60.0449, Gef. 60.0458.

C₂₉H₄₉NO₃ (459.7) Ber. C 75.77 H 10.74 N 3.05 Gef. C 74.51 H 10.75 N 3.06

6e aus 7 α -Brom-**6c**: (25R)-7 α -Brom-26-phthalimido-5-cholesten-3 β ,16 β -diol-diacetat (7 α -Brom-**6c**) wurde in Analogie zu 7 α -Brom-**5c** dargestellt. 126 mg **6c** (0.2 mmol) ergaben 140 mg Rohprodukt von 7 α -Brom-**6c** [¹H-NMR (CDCl₃): 6-H δ = 5.37 (**6c**) \rightarrow 5.76 (7 α -Brom-**6c**)], mit dem ohne weitere Reinigung der Brom-Wasserstoff-Austausch durchgeführt wurde. Die nach Hydrazinolyse, Verseifung und Chromatographie erhaltene Substanz war laut Schmp. und Massenspektrum mit **6e** identisch; keine Schmelzpunktsdepression.

(25R)-26-Amino-[7 α -³H]-5-cholesten-3 β ,16 β -diol ([7 α -³H]-**6e**): Der Brom-Tritium-Austausch wurde mit 31 mg 7 α -Brom-**6c** von Amersham-Buchler unter den gleichen Bedingungen wie oben durchgeführt. Das zurückgesandte Produktgemisch wurde nach Hydrazinolyse und Verseifung über PSC-Platten (System F₂) gereinigt. Die spezifische Aktivität betrug ca. 5.3 · 10¹⁰ dpm/mg.

(25R)-26-Hydroxy-4-cholesten-3-on (**7a**): 523 mg (1.3 mmol) **4a**, 16 ml wasser- und alkoholfreies Aceton, 400 mg (1.6 mmol) Aluminium-*tert*-butylat und 40 ml Benzol wurden 11 h unter Rückfluß

und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde in 2 N H_2SO_4 gegossen, mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingedampft. Nach PSC wurde aus Essigester/Hexan umkristallisiert: 296 mg (57%). R_F 0.47 (System G_4), Schmp. 130 bis 133°C (Lit.¹⁰ 129–131°C), $[\alpha]_{589}^{21} = +84.4^\circ$ ($c = 0.99$, CHCl_3) (Lit.¹⁰ +84.5° und +85.6°).

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 240$ nm. — IR (KBr): 3378 (OH), 1640 cm^{-1} (Δ^4 -3-CO). — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.71$ (s, 3H, CH_3 -18), 1.17 (s, 3H, CH_3 -19), 3.41 (d, 2H, CH_2 -26, $J = 5.5$ Hz), 5.62 (s, 1H, 4-H). — MS (70 eV): $m/e = 400$ (M^+ , 65.5%), 385 (7.1), 382 (3.6), 358 (17.9), 277 (20.2), 271 (13.1), 229 (44.1), 124 (100).

$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$ (400.7) Ber. C 80.94 H 11.07 Gef. C 80.39 H 11.06

(25R)-26-Acetoxy-4-cholesten-3-on (**7b**): Die Lösung von 243 mg (0.61 mmol) **7a** in 30 ml Pyridin wurde nach Zugabe von 10 ml Acetanhydrid 15 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde in 50 ml Eiswasser gegossen, mit verd. Salzsäure angesäuert (pH 3–4) und viermal mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit 5proz. Salzsäure, 6proz. NaHCO_3 -Lösung und Wasser wurde zur Entfernung der Pyridin- und Wasserreste mehrfach mit Toluol abgedampft. Die Reinigung des gelben, öligen Produktes über PSC-Platten im System G_3 lieferte 237 mg (88%) **7b**, das aus Ether/n-Hexan umkristallisiert wurde. R_F 0.62 (System G_3), Schmp. 80–82°C.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 239$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.71$ (s, 3H, CH_3 -18), 1.19 (s, 3H, CH_3 -19), 2.06 (s, 3H, Ac), 3.90 (m, 2H, CH_2 -26), 5.74 (verbr. s, 1H, 4-H). — MS (70 eV): $m/e = 442$ (M^+ , 100%), 427 (9.5), 400 (23.8), 382 (9.0), 319 (18.1), 217 (46.7), 124 (47.6).

(25R)-26-Acetoxy-1,4-cholestadien-3-on (**8**): Die Lösung von 237 mg (0.53 mmol) **7b**, 130 mg Benzoesäure und 125 mg (0.54 mmol) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in 23 ml absol. Benzol wurde 7 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wurde der Hydrochinon-Niederschlag durch Filtrieren und das Benzol durch Einengen im Rotationsverdampfer entfernt. Der gelbe Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, die Lösung mit 1proz. Natronlauge, 6proz. NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und erneut bis zur Trockne eingedampft. Chromatographie auf PSC-Platten (System G_3) lieferte 157 mg (67%) **8** sowie 57 mg (24%) **7b**. Aus Ether/n-Hexan lange farblose Nadeln. R_F 0.59 (**8**), 0.66 (**7b**) (System G_3), Schmp. 107–110°C.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 244$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.73$ (s, 3H, CH_3 -18), 1.23 (s, 3H, CH_3 -19), 2.05 (s, 3H, Ac), 3.90 (m, 2H, CH_2 -26), 6.08 (verbr. s, 1H, 4-H), 6.22 (d, 1H, $J_{1,2} = 10$, $J_{2,4} = 2$ Hz, 2-H), 7.05 (d, 1H, $J_{1,2} = 10$ Hz, 1-H). — MS (70 eV): $m/e = 440$ (M^+ , 14.5%), 425 (1.8), 380 (1.4), 319 (5.0), 269 (10.1), 122 (100).

(25R)-26-Hydroxy-[1 α - ^2H]-4-cholesten-3-on ([1 α - ^2H]-**7a**): 24 mg (0.054 mmol) **8** wurden mit 46 mg Tris(triphenylphosphan)rhodium(I)-chlorid (0.05 mmol) in 10 ml absol. Dioxan 6 h deuteriert. Nach chromatographischer Abtrennung des Katalysators wurde das erhaltene Rohprodukt mit 5proz. methanolischer Kalilauge verseift und erneut chromatographisch aufgetrennt. Umkristallisation aus Essigester/n-Hexan lieferte 15 mg farblose Plättchen von [1 α - ^2H]-**7a**, die mit **7a** keine Schmelzpunktsdepression zeigten: Schmp. 130–133°C. Das Massenspektrum zeigte die Molekülpeaks $m/e = 400$, 401 und 402 im bereinigten Verhältnis von 4.2:9.0:4.2, d. h. das Produkt enthielt 66.2% $^2\text{H}_1$ - und nur 2.9% $^2\text{H}_2$ -(25R)-26-Hydroxy-4-cholesten-3-on.

(25R)-26-Hydroxy-[1 α - ^3H]-4-cholesten-3-on ([1 α - ^3H]-**7a**): 12 mg **8** wurden unter den gleichen Bedingungen von Amersham-Buchler mit Tritiumgas hydriert. Nach Abtrennung des Katalysators wurde das Rohprodukt verseift und über PSC-Platten gereinigt. Die spezifische Aktivität betrug ca. $1.36 \cdot 10^{11}$ dpm/mg.

Literatur

- ¹⁾ H. R. Brennecke, Dissertation, Univ. Bonn 1978.
- ²⁾ R. Tschesche und M. Spindler, *Phytochemistry* **17**, 251 (1978).
- ³⁾ R. Tschesche, H. Hulpke und R. Fritz, *Phytochemistry* **7**, 2021 (1968).
- ⁴⁾ R. Tschesche und J. Leinert, *Phytochemistry* **12**, 1619 (1973).
- ⁵⁾ R. Tschesche und R. Fritz, *Z. Naturforsch., Teil B* **25**, 590 (1970).
- ⁶⁾ R. Tschesche, B. Goossens und A. Töpfer, *Phytochemistry* **15**, 1387 (1976).
- ⁷⁾ J. Scheer, M. J. Thompson und E. Mosettig, *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 4733 (1956).
- ⁸⁾ P. D. G. Dean und M. W. Whitehouse, *Biochem. J.* **98**, 410 (1966).
- ⁹⁾ K. R. Varma, J. A. F. Wickramasinghe und E. Caspi, *J. Biol. Chem.* **244**, 3951 (1969).
- ¹⁰⁾ R. K. Varma, M. Koreeda, B. Yagen, K. Nakanishi und E. Caspi, *J. Org. Chem.* **40**, 3680 (1975).
- ¹¹⁾ R. Tschesche, Y. Saito und A. Töpfer, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 967.
- ¹²⁾ R. E. Marker und D. L. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 767 (1941).
- ¹³⁾ J. C. Collins, W. W. Hess und F. J. Frank, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 3363.
- ¹⁴⁾ R. E. Marker und E. Rohrmann, *J. Am. Chem. Soc.* **61**, 846 (1939).
- ¹⁵⁾ M. E. Wall, S. Serota und L. P. Witnauer, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 3086 (1955).
- ¹⁶⁾ A. Kirfel, G. Will, R. Brennecke und R. Tschesche, *Acta Crystallogr., Sect. B* **33**, 895 (1977).
- ¹⁷⁾ C. Djerassi, *Org. React.* **VI**, 207 (1951).
- ¹⁸⁾ J. J. Zaretskaya, L. M. Kogan, O. B. Tikhomirova, J. O. Sis, N. S. Wulfson, V. J. Zaretskii, V. G. Zaikin, G. K. Skryabin und J. V. Torgov, *Tetrahedron* **24**, 1595 (1968).
- ¹⁹⁾ A. B. Turner und H. J. Ringold, *J. Chem. Soc. C* **1967**, 1720.
- ²⁰⁾ C. Djerassi und J. Gutzwiller, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 4537 (1966).
- ²¹⁾ P. A. Bell und E. Kodicek, *Biochem. J.* **116**, 755 (1970).
- ²²⁾ F. C. Uhle, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 1460 (1961).
- ²³⁾ F. C. Uhle, *J. Org. Chem.* **27**, 2797 (1962).
- ²⁴⁾ M. S. Gibson und R. W. Bradshaw, *Angew. Chem.* **80**, 986 (1968); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **7**, 919 (1968).
- ²⁵⁾ M. Gut und M. Uskoković, *J. Org. Chem.* **25**, 792 (1960).
- ²⁶⁾ R. Tschesche und H. R. Brennecke, *Phytochemistry*, in Vorbereitung.
- ²⁷⁾ R. S. Gohlke und F. W. McLafferty, *Anal. Chem.* **34**, 1281 (1962).
- ²⁸⁾ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds*, Holden-Day, San Francisco 1964.
- ²⁹⁾ Die Massenspektren können bei den Autoren angefordert werden.
- ³⁰⁾ L. F. Fieser und M. Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, 1. Aufl., S. 1287, Wiley, New York 1968.

[398/78]