

Durch Chromatographie der eingeengten Chloroformmutterlaugen an Aluminiumoxyd konnten 300 mg einer Substanz gewonnen werden, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther bei 99—100° schmolz und durch Mischschmelzpunkt, Drehung und Analyse eindeutig als N-Tosyl-L-threonin-methylester identifiziert werden konnten. Dieser Körper scheint durch Umsetzung des Azides mit dem als Lösungsmittel verwendeten Methanol entstanden zu sein. Fast 30% des eingesetzten Hydrazids sind darin enthalten.

**D,D-Form:** Die Darstellung erfolgte analog. Smp. 182—184°,  $[\alpha]_D^{20} = +16,0^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2$  in Methanol.)

Gef. C 49,70 H 6,42 N 7,46%.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt, Basel (Leitung E. Thommen), ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Der Isopropylester des Threonins reagiert mit Chymotrypsin-präparaten unter Bildung von Peptiden.

Nach partieller Hydrolyse des in Wasser schwerlöslichen Anteils der Fermentreaktionsprodukte wird L,L-Threonin-dipeptid in Form von N-Tosyl-L-threonyl-L-threonin-methylester isoliert.

Als Vergleichsmaterial zur Sicherstellung der Konstitution dieses Abbauproduktes werden N-Tosyl-L-threonyl-L-threonin-methylester und dessen optischer Antipode synthetisch aufgebaut.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

## 255. Darstellung von L- und D-Threonin durch Racematspaltung von N-Tosyl-DL-Threonin

von M. Brenner, K. Rüfenacht und E. Sailer.

(15. VIII. 51.)

DL-Threonin ist durch neuere Synthesen gut zugänglich geworden<sup>1)</sup>. Elliott konnte eine optische Spaltung direkt in eine solche Synthese einbauen<sup>2)</sup>. Die von DL-Threonin selbst ausgehende Aufspaltung über die Brucinsalze des N-p-Nitrobenzoylderivates<sup>3)</sup> scheint gelegentlich mit gewissen Schwierigkeiten verbunden zu sein; auch ist die Isolierung der als Zwischenprodukte auftretenden N-Acylderivate der optisch aktiven Formen nicht beschrieben.

Da wir im Laufe unserer Untersuchungen N-Tosyl-L-threonin benötigten<sup>4)</sup>, entwickelten wir eine Methode, die über die Tosylderivate verläuft und überall mit einem Minimum an Kristallisierungsprozessen

<sup>1)</sup> K. Pfister, C. A. Robinson, A. C. Shabica & M. Tishler, Am. Soc. **71**, 1101 (1949); J. Attenburrow, D. F. Elliott & G. F. Penny, Soc. **1948**, 310.

<sup>2)</sup> D. F. Elliott, Soc. **1950**, 62.

<sup>3)</sup> A. J. Zambito, W. L. Peretz & E. E. Howe, Am. Soc. **71**, 2541 (1949).

<sup>4)</sup> M. Brenner, E. Sailer & K. Rüfenacht, Helv. **34**, 2096 (1951).

Das  $7\beta$ -Bromcholesterylbenzoat (IIa) wurde mit Silberhydroxyd<sup>1)</sup> in das  $7\alpha$ -Oxycholesterylbenzoat (IIIa) übergeführt und anschliessend zum Dibenzoat<sup>2)</sup> IIIb benzoiliert. Weiter wurde das  $7\beta$ -Bromcholesterylbenzoat (IIa) mit Dimethylanilin<sup>1,3)</sup> in 7-Dehydro-cholesterylbenzoat (Vb) und  $\Delta^{4,6}$ -Cholestadienolbenzoat<sup>3)</sup> (VIIb) verwandelt. Das Dienol zeigt die charakteristische UltraviolettabSORption (Fig., Kurve 1) eines Diens, dessen konjugiertes System auf zwei Ringe verteilt ist<sup>4)</sup>.

Das durch HBr-Abspaltung und Verseifung erhaltene 7-Dehydro-cholesterol (Va), Smp. 142,3–142,6°, wies im Ultraviolet die drei charakteristischen Maxima des 7-Dehydro-cholesterins auf (Fig., Kurve 2).

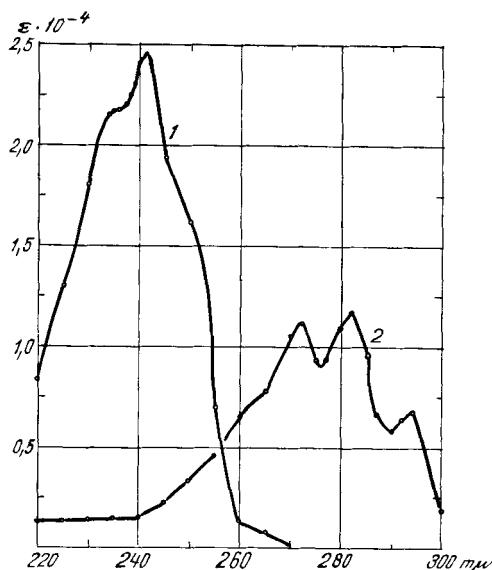


Fig. 1.

1.  $\Delta^{4,6}$ -Cholestadienol in Cyclohexan.
2. 7-Dehydro-cholesterol in Cyclohexan.

Das durch Acetylierung bereitete 7-Dehydro-cholesterylacetat vom Smp. 130° wurde mit Maleinsäureanhydrid zum Addukt IX umgesetzt<sup>5)</sup>. Schliesslich erhielt man aus dem 7-Dehydro-cholesterol (Va) durch Bestrahlung mit Ultravioletlicht in bekannter Weise<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> J. A. Keverling Buisman, W. Stevens & J. van der Vliet, R. **66**, 83 (1947).

<sup>2)</sup> A. Windaus, H. Lettré & F. Schenck, A. **520**, 98 (1935).

<sup>3)</sup> A. E. Bide, H. B. Hembest, E. R. H. Jones, R. P. Peevers & P. A. Wilkinson, Soc. **1948**, 1783.

<sup>4)</sup> L. F. Fieser & M. Fieser, Natural Products Related to Phenanthren, 3rd Ed., Reinhold, New York 1949, S. 186.

<sup>5)</sup> F. Schenck, K. Buchholz & O. Wiese, B. **69**, 2696 (1936).

<sup>6)</sup> A. Windaus, F. Schenck & F. v. Werder, Z. physiol. Ch. **241**, 100 (1936).

je 5 ml Wasser. Die vereinigten Essigesterauszüge wurden mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und bei Normaldruck unter Vermeidung von Überhitzung unbenetzter Kolbenwände entweder bis zur beginnenden Kristallisation oder aber auf ca. 5 ml eingeengt; im letzten Fall führte Animpfen zur sofortigen Kristallisation. Nach mehrstündigem Stehen bei  $-15^\circ$  wurde filtriert und mit wenig kaltem Essigester gewaschen. Ausbeute 1,80—1,89 g (78—82% d. Th.); Smp. 181—182°.

Das Analysenpräparat, aus Essigester umkristallisiert und im Hochvakuum bei 100° 4 Stunden getrocknet, schmolz bei 182—183° mit Sublimation in Tröpfchen ab 175°.

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{NS}$	Ber. C 48,34	H 5,53	N 5,13%
(273,30)	Gef. , ,	48,22 , ,	5,47 , , 4,93%

2. N-Tosyl-DL-threonin-brucinsalz (partielles Racemat). Eine Lösung von 11,41 g N-Tosyl-DL-threonin (41,75 mMol) in 50 ml warmem Methanol wurde mit einer Lösung der äquivalenten Menge Brucin (16,48 g wasserfreie Base) in 50 ml warmem Methanol versetzt. Nach etwa zehnminütigem Erwärmen auf dem Wasserbad begann sich das Salz auszuscheiden. Nach mehrstündigem Stehen bei  $-15^\circ$  wurde abgesaugt und mit etwas kaltem Methanol gewaschen. Die Ausbeute an Rohprodukt mit einem Schmelzpunkt zwischen 205° und 210° betrug 26,70 g (95,7% d. Th.). Das Salz wurde so weiterverarbeitet.

Aus Wasser umkristallisiert (100 mg in 4 ml Wasser) schmolzen die prismatischen Kristalltafeln variabel<sup>1)</sup> zwischen 210° und 215° mit vorheriger Sublimation in Tröpfchen.

3. N-Tosyl-L-threonin-brucinsalz und N-Tosyl-D-threonin-brucinsalz.  
a) *Verfahren mit Methanol allein:* 2,33 g (3,49 mMol) N-Tosyl-DL-threonin-brucinsalz (partielles Racemat) wurden in 55 ml Methanol durch dreiviertelstündiges Kochen am Rückfluss gelöst. Die heiße Lösung impfte man mit wenig N-Tosyl-L-threonin-brucinsalz an und liess sie über Nacht bei 0° stehen. Das L-Salz schied sich als zusammenhängender Kristallkuchen aus. Die überstehende Lösung wurde schnell durch eine Nutsche, welche rasches Durchlaufen gewährleistete, abdekantiert, der noch im Kolben haftende Kristallkuchen mit 20 ml Methanol vorsichtig gewaschen (kein Spatel, kein Glasstab!), das Methanol wieder abdekantiert, dann nach Zugabe von 10 ml Methanol der Kristallkuchen zerdrückt, aufs Filter gespült und mit 5 ml Methanol nachgewaschen. Nach dem Trocknen wogen die Kristalle 1,1 g (94% d. Th. an L-Salz) und schmolzen von 135—140°.

Aus dem Filtrat schied sich sofort oder wenige Minuten nach der Filtration das D-Salz in Nadeln aus. Nach mehrstündigem Stehen bei  $-15^\circ$  erhielt man durch Filtration 0,82 g (70% d. Th.) D-Salz mit Smp. 131—137°.

Aus 1,1 g rohem L-Salz erhielt man durch Umkristallisieren aus 50 ml Methanol (zum Lösen ist wieder längeres Kochen nötig) unter Animpfen 0,95 g feine verfilzte Nadelchen mit einem Smp. von 138—140°<sup>1)</sup>.

Aus 0,82 g rohem D-Salz erhielt man durch Umkristallisieren aus 19 ml Methanol unter Animpfen 0,74 g Nadeln und Stäbchen mit einem Smp. von 136—138°<sup>1)</sup>.

Ein Gemisch der beiden Salze schmolz zwischen 90° und 110°, erstarrte bei weiterem Erwärmen und schmolz ein zweites Mal bei 200—205°.

b) *Verfahren mit Methylcellosolve und Methanol:* 26,6 g (39,8 mMol) N-Tosyl-DL-threonin-brucinsalz (partielles Racemat) wurden in 53 ml Methylcellosolve durch Erwärmen auf dem Wasserbad gelöst. Durch den Rückflusskühler liess man nicht zu schnell 145 ml Methanol zufließen, impfte mit L-Salz an und liess vier Stunden bei Zimmertemperatur stehen (nicht im Kühlschrank!). Das Abdekantieren und Filtrieren erfolgte wie unter a) beschrieben, wobei zum ersten Nachspülen 80 ml eines Methylcellosolve-Methanol-Gemisches gleicher Zusammensetzung, zu einem zusätzlichen zweiten Nachspülen 80 ml Methanol, zum Herauspülen nochmals 80 ml Methanol und zum Nachwaschen noch 50 ml Methanol verwendet wurden. Die Ausbeute an L-Salz, das noch durch etwas D-Salz verunreinigt war, betrug 14,1 g.

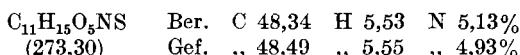
<sup>1)</sup> Vgl. Bemerkung über die Schmelzpunkte der Brucinsalze in der Einleitung.

Die weitere Reinigung des rohen L-Salzes erfolgte durch genaue Wiederholung des obigen Trennungsprozesses mit den gleichen Lösungsmittelmengen. Man erhielt so 12,2 g reines L-Salz (92% d. Th.) mit Smp. 140—142<sup>21</sup>.

Aus dem Filtrat fiel auch hier sofort das D-Salz aus. Die Filtration erfolgte nach mehrstündigem Stehen bei —15° und lieferte 10,78 g Substanz. Durch einmaliges Umkristallisieren aus Methanol, wie unter a) beschrieben, erhielt man reines D-Salz.

**4. N-Tosyl-L- und N-Tosyl-D-threonin.** Die Suspension von 17,35 g (26,1 mMol) N-Tosyl-L-threoninbrucinsalz in 52 ml Wasser wurde auf 0° gekühlt und unter Röhren auf einmal mit der theoretischen Menge 0,5-n. Natronlauge (53 ml) versetzt. Kurze Zeit nach der Bildung einer fast klaren Lösung begann sich das Brucin auszuscheiden. Man rührte noch eine Stunde bei 0° weiter, filtrierte sodann, wusch mit 50 ml Eiswasser und säuerte das Filtrat mit konzentrierter Salzsäure an (stark kongosauer!). Nach einigen Minuten begann eine rasche Kristallisation in Schuppen. Das nach mehrstündigem Stehen bei 0° abfiltrierte und mit wenig Eiswasser gewaschene Produkt enthielt ein Mol Kristallwasser und schmolz bei vorsichtigem Erhitzen zwischen 80 und 90°. Die Ausbeute betrug 6,88 g (91% d. Th.). Umkristallisierten aus der neufachen Menge Wasser lieferte praktisch verlustlos ein Produkt, welches nach Vertreiben des Kristallwassers durch langsames Erhitzen auf 100° im Vakuum einen Schmelzpunkt von 135—137° zeigte.

Ein Analysenpräparat, aus Wasser umkristallisiert und im Hochvakuum 6 Stunden bei 90° getrocknet, schmolz bei 136—137°.  $[\alpha]_D^{18} = +14,8^\circ \pm 0,8^\circ$  ( $c = 2$  in Methanol).



Die aus dem N-Tosyl-D-threonin-brucinsalz ganz analog dargestellte D-Form besass den gleichen Schmelzpunkt.  $[\alpha]_D^{18} = -14,7^\circ \pm 0,5^\circ$  ( $c = 2$  in Methanol). Gef. N 4,98%.

**5. L-Threonin und D-Threonin.** 3,48 g (11,95 mMol) kristallwasserhaltiges rohes N-Tosyl-L-threonin wurden mit 40 ml konz. Salzsäure ( $d = 1,19$ ) bei 90—100° 7 Stunden im Bombenrohr verseift. Durch Abkühlen der blassgelben Lösung auf —10° konnte der grösste Teil der entstandenen Sulfosäure ausgefällt werden. Nach Filtration durch Glaswolle und Nachwaschen mit kalter, konz. Salzsäure wurde das Filtrat im Vakuum zum Sirup eingeengt. Durch zweimaliges Eindampfen mit je 50 ml Wasser wurde überschüssige Salzsäure und durch anschliessendes Eindampfen mit 50 ml Alkohol das Wasser entfernt. Bei der Neutralisation des in 35 ml absolutem Alkohol gelösten Sirups mit Diäthylamin auf Lackmus<sup>2</sup>) fiel das L-Threonin feinsandig aus. Filtration und Waschen mit Alkohol und Äther ergaben 1,24 g (82% d. Th.) Rohprodukt.

Die weitere Reinigung erfolgte durch Lösen in Wasser, kurzes Aufkochen mit wenig gewaschener Tierkohle, Filtration und Versetzen der heißen, wässerigen Lösung (18 ml) mit 72 ml siedendem, absolutem Alkohol, in welchem wenige Kristalle bereits vorhandener Substanz oder einige Körnchen zurückbehaltenen Rohprodukts suspendiert waren. Ausbeute 1,09 g (72% d. Th.) optisch und chemisch reines L-Threonin in Form hexagonaler Blättchen. Zersetzungspunkt ca. 260<sup>0,3</sup>.

Zu Analyse und Drehung wurde aus Wasser/Alkohol umkristallisiert und 4 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet.  $[\alpha]_D^{18} = -29,2^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2$  in Wasser)<sup>3</sup>). Ber. N 11,76%, Gef. N 11,62%.

D-Threonin liess sich analog aus N-Tosyl-D-threonin darstellen.  $[\alpha]_D^{18} = +29,3^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2$  in Wasser). Gef. N 11,68%.

<sup>1)</sup> Vgl. Bemerkung über die Schmelzpunkte der Brucinsalze in der Einleitung.

<sup>2)</sup> Rotes Lackmuspapier wurde gerade schwach geblaut; pH 7—7,5.

<sup>3)</sup> D. F. Elliott, loc. cit., gibt für L-Threonin einen Smp. 262—263° (Zers.) und eine Drehung  $[\alpha]_D^{21} = -28,5^\circ$  ( $c = 2,4$  in Wasser) an.

## Zusammenfassung.

DL-Threonin lässt sich über das Brucinsalz seiner N-Tosyl-Verbindung, das als „partielles Racemat“ isolierbar ist, leicht und in guter Ausbeute in L- und D-Threonin aufspalten.

Alle Zwischenprodukte, namentlich die optisch aktiven N-Tosyl-threonine, besitzen ein ausgezeichnetes Kristallisationsvermögen.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

## 256. Über Steroide und Sexualhormone.

176. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Ein neuer Weg zur Synthese von 11-Keto-Steroïden

von H. Heusser, K. Eichenberger, P. Kurath, H. R. Dällenbach und O. Jeger.

(15. VIII. 51.)

Bei der direkten<sup>2)</sup> oder stufenweisen<sup>3)</sup> Oxydation der tetracyclischen Triterpene Lanostenol-acetat (I) und Dihydro-agnosterin-acetat (II), welche in den Ringen B und C des Gerüstes gemeinsam eine Doppelbindung bzw. zwei konjugierte Doppelbindungen enthalten, entsteht ein ungesättigtes 1,4-Diketon. Für dieses konnte kürzlich die Teilformel III eines Lanostendionol-acetats abgeleitet werden<sup>4)</sup>). Das Lanostendionol-acetat (III) wurde in unserem Laboratorium durch einfache und übersichtliche Reaktionen über die Zwischenprodukte IV und V in das gesättigte Monoketon VI übergeführt<sup>4)</sup>. In der gleichen Arbeit hat der eine von uns (O. J.) das Lanostenol mit den Sterinen verglichen, dabei die stark verschiedene Reaktionsfähigkeit der beiden Carbonyl-Gruppen der Verbindung IV hervorgehoben und ausdrücklich darauf hingewiesen, dass ein gleicher Unterschied in der Reaktionsfähigkeit zwischen 7- und 11-Keto-Steroïden besteht.

Wir versuchten nun ähnliche Umsetzungen in der Steroid-Reihe durchzuführen. Es ergab sich dabei ein neuer Weg zur Einführung einer Sauerstofffunktion in die Stellung 11 des Gerüstes. Im folgenden

<sup>1)</sup> 175. Mitt. Helv. **34**, 843 (1951).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, Ed. Rey & A. C. Muhr, Helv. **27**, 472 (1944).

<sup>3)</sup> M. J. Birchenough & J. F. McGhie, Soc. **1950**, 1249; **1951**, 744.

<sup>4)</sup> W. Voser, M. Montavon, Hs. H. Günthard, O. Jeger & L. Ruzicka, Helv. **33**, 1893 (1950).

<sup>5)</sup> In dieser Arbeit verwenden wir für das Lanostenol-acetat und seine Umwandlungsprodukte die inzwischen vervollständigten Teilformeln. Vgl. W. Voser, M. V. Mijović, O. Jeger & L. Ruzicka, Helv. **34**, 1585 (1951).