

blue tetrazolium, sodium hydroxide, phosphoric acid¹ and antimony trichloride, showed the same R_F value as aldosterone (and 17-hydroxy-corticosterone) and contained only minor impurities. This system was therefore used to purify 4.2 mg of the solubles preparatively on paper, the band corresponding to aldosterone being eluted with 20% methanol. The eluate was evaporated *in vacuo* and extracted 8 times with chloroform, yielding a residue of 3.4 mg. Upon solution in a little moist ether-acetone (3:1) and inoculation with aldosterone it crystallised at once. After 15 hours' standing at -10°C we decanted the mother liquor and washed the crystals 3 times with ether-acetone (3:1). The preparation (1.0 mg) melted at $100\text{--}110^{\circ}\text{C}$, crystallised again partially upon further heating and melted finally at $150\text{--}155^{\circ}\text{C}$. Recrystallisation was carried out with a big loss from ether-acetone (2:1) with the purpose of obtaining the purest possible product. It yielded 0.35 mg of pure aldosterone which melted partially at $110\text{--}115^{\circ}\text{C}$, crystallised again totally upon further heating and melted finally at $156\text{--}165^{\circ}\text{C}$. The melting point of a mixture with authentic aldosterone showed no depression. The infrared spectrum in chloroform² was in conformity with that of aldosterone from beef adrenals³ (compare Fig. 1, *a* and *b*). The broad band at $2.85\text{--}3.05\mu$, shown only in the latter, is due to the extensive hydrogen bonding, occurring only in high concentration³, this being in the case of the aldosterone from adrenals about 5 times higher than in the case of the aldosterone from urine.

The mother liquor of the first crystallisate contained, according to paperchromatographic determination, a further 0.9 mg of aldosterone. Extract *B*, therefore, contained a total of 1.9 ± 0.2 mg aldosterone and the entire 13 days' urine probably towards 3 mg of aldosterone. The high content, together with the comparatively simple isolation process in this case, makes the urine of nephrotic patients a very suitable starting material for the extractive preparation of aldosterone. The physiological significance of the high aldosterone excretion in certain diseases has still to be established.

A detailed report will appear elsewhere.

J. A. LUETSCHER, JR., R. NEHER,
and A. WETTSTEIN

Stanford University School of Medicine, San Francisco,
California;

Research Laboratories of Ciba Ltd., Basle, Switzerland,
October 1, 1954.

Zusammenfassung

Es ist erstmals gelungen, Aldosteron aus menschlichem Urin zu isolieren. Eine Fraktion des 13-Tage-Harnes von einem Knaben mit Nephrose und massiven Ödemen ergab 1,0 mg dieses biologisch hochaktiven Hormons in kristallisierter Form. Da der Gesamtgehalt gegen 3 mg betrug, stellt solcher Harn ein geeignetes Ausgangsmaterial dar zur extraktiven Gewinnung von Aldosteron. Letzteres erwies sich in seinen Eigenschaften als identisch mit Aldosteron aus Rinder-Nebennieren.

¹ R. NEHER and A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **34**, 2278 (1951).

² Our best thanks are due to Dr. E. GANZ, Basle, for these determinations.

³ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **37**, 1173-1176 (1954).

Neue Synthesen des Chloramphenicols und deren stereochemischen Beziehungen

Wir haben zwei neue Synthesen des Chloramphenicols (I) ausgearbeitet. Diese Synthesen geben auch bestimmte Aufklärung über stereochemische Zusammenhänge in der Reihe der β -Phenylserinäther und über den «Neighboring group effect»¹.

Vom Diastereoisomeren des β -Phenylserin-O-methyläthers (II) mit dem niedrigeren Schmelzpunkte ausgehend (Darstellung durch Ammonolyse von 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure Smp. 140° ²), wurde die threo-Modifikation des β -Phenylserinolmethyläthers (III), (Smp. des N-p-Nitrobenzoats: $179\text{--}181^{\circ}$, $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$: berechnet C 61,85, H 5,49, N 8,48; gefunden C 61,95, H 5,63, N 8,50) auf zwei Wegen hergestellt: erstens wurde der Äthylester von (II) mit LiAlH_4 reduziert, zweitens wurde das Säurechlorid der Phthalylverbindung von (II) nach ROSEN MUND zum 2-Phenyl-2-methoxy-1-phthalimino-propionaldehyd reduziert, dann mit Aluminiumisopropylat reduziert und mit Hydrazin dephthalyliert. Das O-N-Diazetat von (III) wurde nitriert und desazetyliert; die entstandene Base (IIIa, Smp.: $82\text{--}84^{\circ}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$: ber. C 53,09, H 6,20; gefunden C 53,04, H 6,22) gab nach Demethylierung das threo-1(p-Nitrophenyl)2-amino-1,3-dioxypropan. (IIIa) wurde mit Weinsäure oder Dibenzoylweinsäure in die optischen Antipoden gespalten. Das linksdrehende Isomere von (IIIa) (Smp.: $105\text{--}107^{\circ}$, $[\alpha]_D^{25} -74^{\circ}$, C = 1% in n-Salzsäure) konnte zu einer Verbindung demethyliert werden, die mit der Base - entstehend bei der Hydrolyse des natürlichen Chloramphenicols (Ia) - in jeder Hinsicht identisch war. (Ia) gab mit Pentachlorazeton in ausgezeichnetner Ausbeute Chloramphenicol.

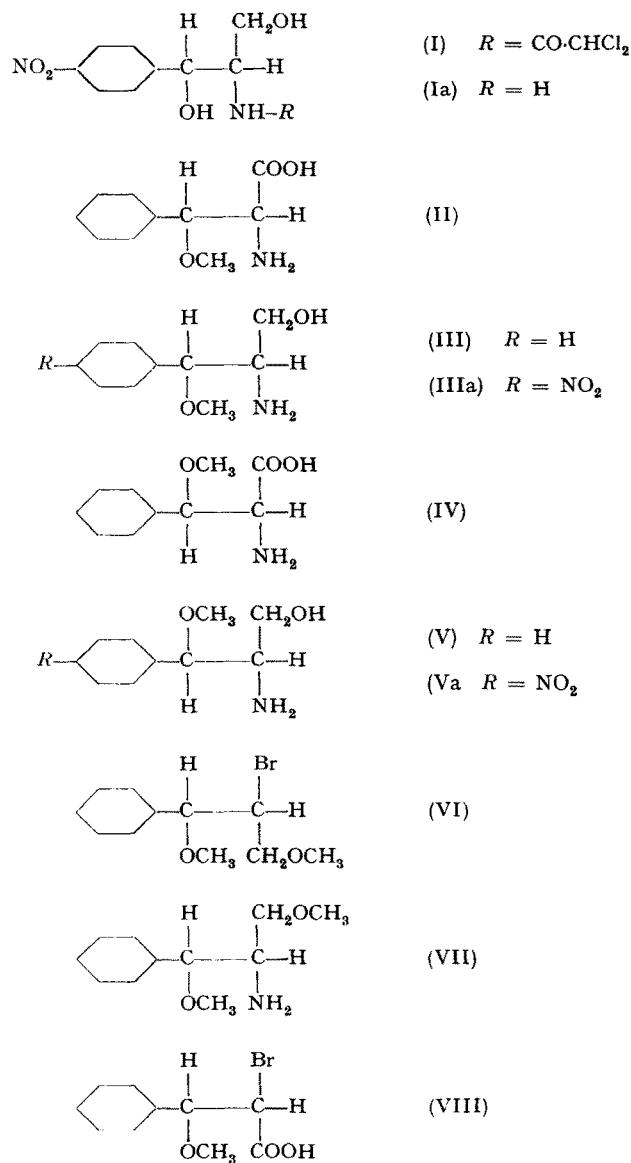
Das Diastereoisomere des β -Phenylserin-methyläthers (IV) (mit dem höheren Schmelzpunkt; darstellbar durch Ammonolyse der 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure vom Smp.: 180° (III), welche sich in quantitativer Ausbeute aus trans-Zimtsäure in methanolischer Lösung durch die Einwirkung von Brom und gelbem Bleioxyd bildet³), konnte mit denselben Methoden reduziert werden. Es entstand so der erythro- β -Phenylserinol-methyläther (V) (Smp. des N-p-Nitrobenzoats $163\text{--}164^{\circ}$; $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$: berechnet N 8,48; gefunden N 8,26), welcher wie oben in die p-Nitroverbindung übergeführt werden konnte (Va) (Smp.: $110\text{--}111^{\circ}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$: berechnet C 53,09, H 6,20, N 12,40; gefunden C 52,87, H 6,22, N 12,36). Interessanterweise bildete sich beim Demethylieren von (V) mit wässriger Bromwasserstoffsäure neben erythro- β -Phenylserinol in erheblicher Menge auch threo- β -Phenylserinol. Um diese Erscheinung zu erklären, unterwarfen wir erythro- β -Phenylserinol den Demethylierungsbedingungen (Kochen mit wässriger Bromwasserstoffsäure); wir bekamen so in guter Ausbeute das threo-Isomere (das erythro- oder threo- β -p-Nitrophenylserinol und das threo- β -

¹ S. WINSTEIN und R. E. BUCKLES, *J. Amer. Chem. Soc.* **64**, 2780 (1942). - E. ABBERHALDEN und W. ZEISSET, *Z. Physiol. Chem.* **200**, 179 (1931).

² H. E. CARTER und E. VAN LOON, *J. Amer. Chem. Soc.* **59**, 2555 (1937); **60**, 1079 (1938).

³ Die oben erwähnte neue Methode wurde mit gutem Erfolg zur Addition der Elemente der Alkyhypobromite bei anderen ungesättigten Verbindungen gebraucht. So zum Beispiel bei ungesättigten Alkoholen (Zimtalkohol), bei ungesättigten Aldehyden und Ketonen (Zimtaldehyd, Benzalazeton), bei ungesättigten Säuren (2,2-Dimethylacrylsäure); die Ausbeuten erreichten in jedem Falle 90%. Die Methode ist auch brauchbar zur Herstellung von Äthoxy-Brom-Verbindungen, aber hier kann man gute Ausbeuten nur durch Zugabe katalytischer Mengen Wassers erreichen.

Phenylserinol blieben unter ähnlichen Bedingungen unverändert). Übrigens ist diese Methode die einfachste zur Umwandlung von erythro- in threo- β -Phenylserinol.



So war es offenbar, dass entweder bei der Demethylierung von (III) oder (V) oder nach der Demethylierung eine vollständige oder teilweise Waldensche Umkehrung eingetreten war. Zur Aufklärung dieser Verhältnisse haben wir den threo- β -Phenylserinol-O₁-methyläther so dargestellt, dass die Reaktion konfigurationsbeweisend ist: authentisches threo- β -Phenylserinol-N-O₃-diazetat wurde mit Jodmethyl und Silberoxyd methyliert und desazetyliert. Der so hergestellte Methyläther war identisch mit (III). Auf diese Art war erstens die Konfiguration von (III) bewiesen, zweitens, dass bei der Demethylierung von (III) keine Konfigurationsänderung eintritt.

Für unsere zweite Chloramphenicol-Synthese diente als Ausgangsmaterial der gewöhnliche Zimtalkohol-methyläther (trans-Isomeres¹). Dieser wurde in methylalkoholischer Lösung in Gegenwart von gelbem Bleioxyd mit Brom zur Reaktion gebracht. Es bildete sich

das 1-Phenyl-2-brom-1,3-dimethoxypropan (VI); dieses wurde durch Ammonolyse in β -Phenylserinol-dimethyläther (VII, Smp. des N-p-Nitrobenzoats 129–130°; C₁₈H₂₀O₅N₂: berechnet N 8,13; gefunden N 8,00) übergeführt. Das N-Azetat von (VII) war identisch mit der Verbindung hergestellt aus threo- β -Phenylserinol-N-azetat durch Methylierung mit Jodmethyl und Silberoxyd. Auf diese Weise war seine Konfiguration bewiesen. Das N-Azetat von (VII) (Smp.: 97–98°; C₁₈H₁₈O₃N: berechnet C 65,82, H 8,02, N 5,91; gefunden C 65,82, H 8,25, N 5,91) wurde nitriert (Smp.: 129–130°; C₁₈H₁₈O₅N₂: berechnet C 55,32, H 6,38, N 9,93; gefunden C 55,29, H 6,66, N 9,94), desazetyliert und demethyliert: es bildet sich threo- β -p-Nitrophenylserinol.

Aus den obigen Resultaten geht hervor, dass die Ammonolyse der 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure (VIII) und des 1-Phenyl-2-brom-1,3-dimethoxypropan (VI) zu solchen Aminoderivaten führt, welche im Verhältnisse der Diastereoisomerie zueinander stehen. Aber (VIII) und (VI) haben wahrscheinlich die gleiche Konfiguration, da wir diese Verbindungen durch Addition der Elemente des Methylhypobromits (Reaktion mit Brom und Methylalkohol in Gegenwart von gelbem Bleioxyd) an die Doppelbindung der trans-Zimtsäure bzw. des trans-Zimtalkohols erhielten. Dieser scheinbare Widerspruch kann mit dem bei der Ammonolyse von (VIII) annehmbaren «Neighboring group effect» erläutert werden. Dieser bewirkt, dass bei der Ammonolyse von (VIII) keine Konfigurationsänderung eintritt; bei der Ammonolyse von (VI) tritt dieser Effekt nicht stark genug in Erscheinung, um den normalen – mit Inversion ablaufenden – Gang der Reaktion von Typus S_N2 zu beeinflussen.

Nach den Untersuchungen von FODOR und Mitarbeiter¹ liegen in (I) (threo-Reihe) die Hydroxylgruppe neben der Phenylgruppe und die Aminogruppe in cis-Stellung (die Formeln sind auf Grund dieser Arbeit dargestellt). So muss die Addition der Elemente des Methylhypobromits (und wahrscheinlich auch die Addition der Elemente anderer Hypobromite) an die Doppelbindung (da Verbindungen der erythro-Reihe zustande kommen) als trans-Addition betrachtet werden.

Eine ausführliche Mitteilung wird in den Hung. chim. Acta erscheinen.

(Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.)

J. KOLLONITSCH, A. HAJÓS,
V. GÁBOR
(und teilweise M. KRAUT)

Laboratorium des Forschungsinstituts für die pharmazeutische Industrie und der Fabrik Chinoïn, Budapest, den 20. April 1954.

Summary

Two new syntheses of Chloramphenicol are described starting from the diastereoisomers of β -phenylserin-methyl ether and cinnamyl alcohol methyl ether respectively. The configurational correlation of the diastereoisomers of β -phenylserin-methyl ether with β -phenylserin and chloramphenicol is discussed. A new method for transforming erythro- β -phenylserinol into threo- β -phenylserinol is described. New examples of the “Neighboring group effect” were studied. The sterical course of the addition of methylhypobromite to the double bond is discussed.

¹ B. GREY, C. r. Acad. Sci. 202, 664 (1936).

¹ G. FODOR, J. KISS und J. SALLAY, J. Chem. Soc. 1951, 1858.