

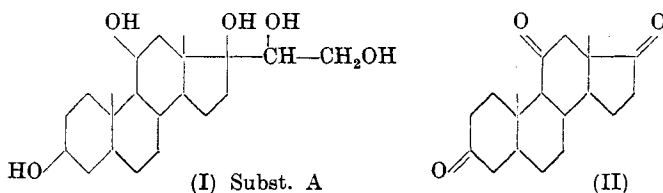
125. Über Bestandteile der Nebennieren-Rinde (XI).

Zur Konstitution der $C_{21}O_5$ -Gruppe

von T. Reichstein.

(3. VIII. 37.)

Kürzlich¹⁾ wurde der Beweis erbracht, dass das letzte Sauerstoffatom in Substanz A als sekundäre Alkoholgruppe enthalten ist, die höchst wahrscheinlich in 11-Stellung liegt. Substanz A, die überhaupt die Grundlage der Konstitutionsermittlung aller bisher bekannten Bestandteile der Nebennierenrinde, die zu dieser Gruppe gehören, ergeben hat, besitzt somit die Formel (I) eines Allo-pregnan-3,11,17,20,21-pentols (sterisch dem Cholestanol entsprechend), wobei lediglich



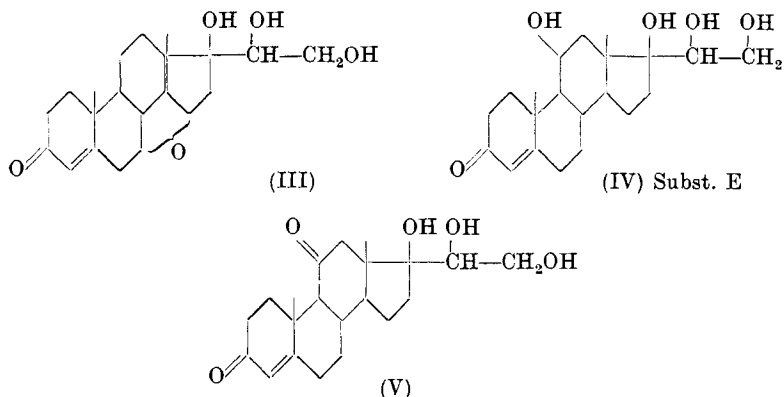
die Lage des 11-ständigen Hydroxyls mit einer gewissen Unsicherheit behaftet ist²⁾.

Da die Lage des letzten Sauerstoffatoms in allen Substanzen der $C_{21}O_5$ -Reihe dieselbe ist, weil sie alle in das Triketon (II) überführbar sind, so war zur definitiven Vervollständigung der früher gegebenen Formeln noch die Bindungsart dieses Sauerstoffatoms bei den verschiedenen Vertretern festzustellen, also zu prüfen, ob es als Hydroxyl oder Ketogruppe vorhanden ist. Dies ist inzwischen für die ungesättigten Vertreter (Substanz E, F.a und M) durchgeführt worden.

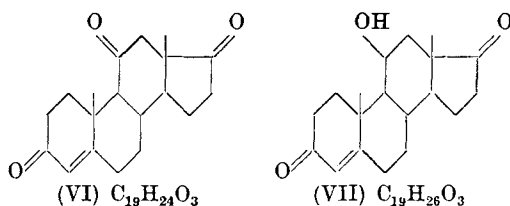
¹⁾ M. Steiger und T. Reichstein, 9. Mitteilung, Helv. **20**, 817 (1937).

²⁾ In dieser und den nachstehenden Formeln wird der Einfachheit halber das genannte Sauerstoffatom in dieser Lage fest eingesetzt, obgleich 12-, 6- und 7-Stellung nicht absolut ausgeschlossen, nur unwahrscheinlich sind. Als in gewissem Gegensatz zu dieser Annahme stehend, wurde in der zitierten Arbeit mitgeteilt, dass sich in Derivaten des Digoxigenins und Sarmentogenins, in denen sich nach R. Tschesche und K. Bohle, B. **69**, 798, 2497 (1937), eine Ketogruppe in 11-Stellung vorfindet, diese nicht nach Clemmensen reduzierbar ist. Herr Dr. Tschesche macht mich freundl. darauf aufmerksam, dass dies nicht richtig ist, sondern nur für die Derivate des Sarmentogenins zutrifft; in den Derivaten des Digoxigenins, die nach Tschesche und Bohle am Kohlenstoff Nr. 9 die Konfiguration des Cholesterins besitzen, ebenso wie die Produkte aus der Nebenniere, ist die träge Ketogruppe wohl nach Clemmensen reduzierbar, so dass auch diese Schwierigkeit wegfällt.

Für Substanz E war früher die Formel (III) bewiesen worden¹⁾, in der lediglich die Lage und Funktion des letzten Sauerstoffatoms unbestimmt und die Lage der Doppelbindung nicht eindeutig bewiesen war. Bei Platzierung des Sauerstoffs in 11-Stellung war also zwischen



den Formeln (IV) und (V) zu entscheiden. Formel (IV) erwies sich als richtig, und zwar aus folgendem Grund: Durch Oxydation mit Chromsäure wird aus Substanz E, wie früher mitgeteilt, das Adreno-



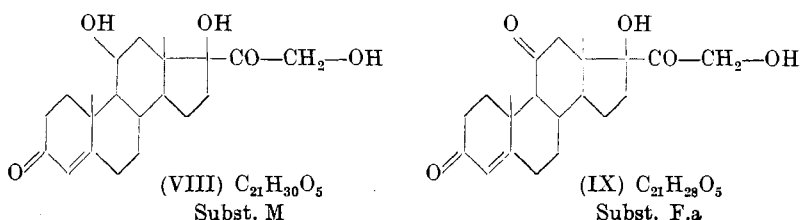
steron (VI) (Smp. ca. 220° korr.) erhalten. Wenn Formel (V) richtig wäre, so müsste durch Oxydation von E mit Perjodsäure ebenfalls Adreno-steron (VI) resultieren. Das ist nicht der Fall, sondern es wird ein Diketon vom Smp. 190° korr. erhalten, dessen Analysenwerte gut auf die um 2 Wasserstoffatome reichere Formel $C_{19}H_{26}O_3$ passen, und das somit die Formel (VII) besitzt. Durch Chromsäure wird es erwartungsgemäss leicht in Adreno-steron übergeführt. Der Substanz E kommt somit Formel (IV) zu. Die der Formel (V) entsprechende Substanz ist bisher in der Drüse noch nicht aufgefunden worden, dürfte aber wahrscheinlich auch darin vorkommen.

Dieser Befund erlaubt eine Präzisierung bezüglich der in 4-Stellung angenommenen Doppelbindung. Bisher war nur festgestellt, dass sie sich in Konjugation zu einer Ketogruppe befinden muss, da das U.V.-Absorptionsspektrum von Substanz E die typische Bande der α, β -ungesättigten Ketone bei ca. 240 $m\mu$ zeigt. Da nunmehr fest-

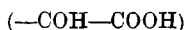
¹⁾ T. Reichstein, 6. Mitteilung, Helv. 19, 1107 (1936).

steht, dass in Substanz E nur eine Ketogruppe, und zwar in 3-Stellung enthalten ist, so kann die Doppelbindung nur in 1- oder 4-Stellung liegen. Das letztere ist aus Analogiegründen mit den verwandten Naturprodukten Progesteron und Testo-steron bei weitem wahrscheinlicher, doch soll es gelegentlich noch streng bewiesen werden. Diese Präzisierung gilt nicht nur für Substanz E, sondern naturgemäss auch für die anderen Vertreter der $C_{21}O_5$ -Reihe, die bei der Oxydation Adreno-steron ergeben, sowie für Adreno-steron selbst.

Ein ähnlicher Weg wurde bei den Substanzen F.a und M versucht, für welche nach früheren Ausführungen¹⁾ die Formeln (VIII) und (IX) in Betracht kommen.



Perjodsäure ist für die direkte Entscheidung ungeeignet, da die Ketolgruppierung damit nur bis zur α -Oxysäure-stufe



abgebaut wird²⁾, die gegen Perjodsäure beständig ist. Prinzipiell brauchbar ist Bleitetraacetat³⁾. Dieses Reagens gibt hier aber sehr wenig einheitliche Produkte und schlechte Ausbeuten. Immerhin konnte aus Substanz M mit Bleitetraacetat eine kleine Menge Neutralprodukt isoliert werden, das sich als identisch mit dem Diketon (VII) erwies. Schon daraus ist zu schliessen, dass dieser Substanz die Formel (VIII) zukommen muss.

Eine erwünschte Bestätigung und eine gleichzeitige Zuordnung der Formel (IX) für Substanz F.a erbrachte die Oxydation der Acetate. Aus Substanz M wird durch milde Acetylierung ein gut krystallisierendes Acetat erhalten, dessen Analysenwerte auf ein Mono-acetat stimmen⁴⁾. Ebenso lässt sich aus Substanz F.a ein ausgezeichnet krystallisierendes Acetat bereiten, dessen Analysenwerte ebenfalls auf eine Mono-acetylverbindung stimmen. Durch vorsichtige Oxydation des Acetates von Substanz M werden nun

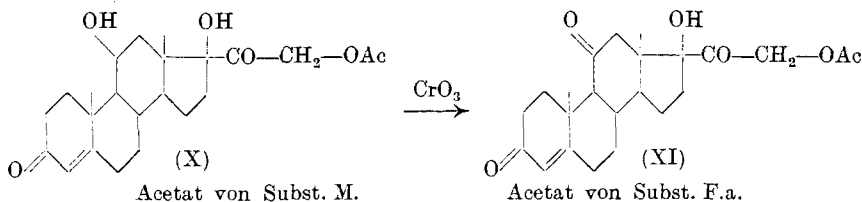
¹⁾ T. Reichstein, 6. Mitteilung, Helv. 19, 1107 (1936); 10. Mitteilung, Helv. 20, 953 (1937).

²⁾ Vgl. P. W. Chutterbuck, F. Reuter, Soc. 1935, 1467; E. C. Kendall, H. L. Mason, C. S. Myers, Proc. Staff Meeting Mayo Clinic 11, 351 (1936), Sitzung vom 27. Mai.

³⁾ Reagens von Criegee. Zur Anwendung auf Ketole dieser Gruppe vgl. T. Reichstein, Helv. 19, 1114, Anm. 5 (1937).

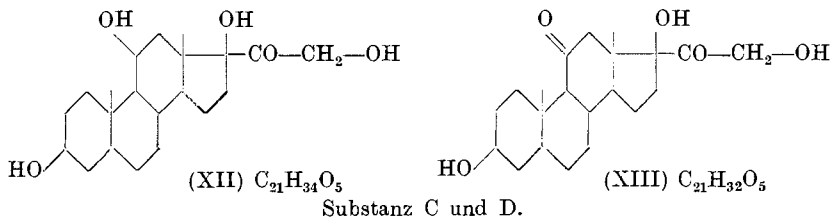
⁴⁾ Ein Di-acetat wäre nicht unmöglich, da die berechneten Werte nicht weit auseinanderliegen, dies ist aber für das Folgende unerheblich, da die zweite Acetylgruppe nur in 17-Stellung liegen könnte und im Acetat von F.a dann auch enthalten wäre.

ohne Kohlenstoffverlust 2 Wasserstoffatome eliminiert und es entsteht in glatter Reaktion das Acetat von F.a. Dem ersteren kommt somit Formel (X) und dem zweiten (XI) zu, den freien Substanzen M und



F.a somit die Formeln (VIII) und (IX). Damit sind auch die Bruttoformeln eindeutig festgelegt, die sich sonst nur durch sehr zahlreiche Analysen, also mit viel Substanzverlust durch direkte Verbrennung feststellen lassen. Es mag noch erwähnt werden, dass die Acetate auch zur Unterscheidung der ausserordentlich ähnlichen Substanzen F.a und M sehr geeignet sind, da sie sich im Schmelzpunkt um fast 20° unterscheiden.

Es verbleiben noch die zwei ebenfalls sehr ähnlichen, gesättigten Substanzen C und D der $C_{21}O_5$ -Serie bezüglich der Funktion des 11-ständigen Sauerstoffatoms aufzuklären. Nach den früheren Mitteilungen¹⁾ kommen für sie die Formeln (XII) und (XIII) in



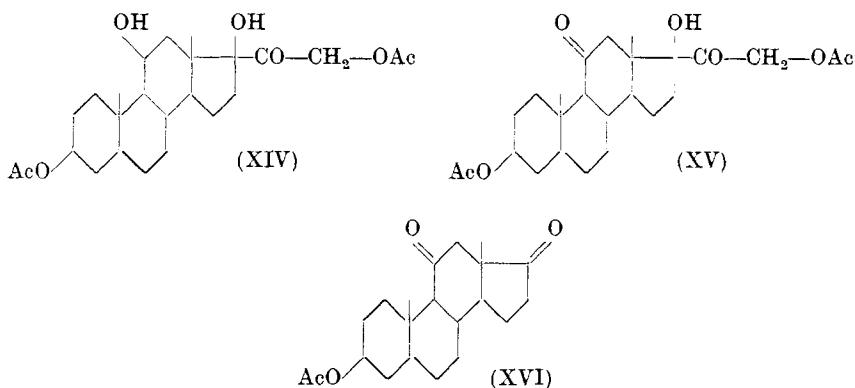
Frage (beide sterisch dem Cholestanol entsprechend), wobei es am wahrscheinlichsten ist, dass der einen die Formel (XII), der anderen (XIII) zukommt²⁾.

Bisher konnte die Zuordnung, hauptsächlich wegen Materialmangel, nicht einwandfrei erfolgen. Ein Versuch zur Oxydation von Substanz C mit Bleitetracetat gab kein reines Produkt. Es wurde daher der Weg über die Acetate versucht. Bei der Acetylierung wurde aus Substanz D ein gut krystallisiertes Acetat erhalten, dessen Analyse, wie erwartet, auf ein Diacetat (XIV) oder (XV) gut stimmende Werte lieferte. Hingegen wurde aus Substanz C wahrscheinlich wegen Anwendung einer nicht ganz reinen Probe

¹⁾ T. Reichstein, 4. Mitteilung, Helv. **19**, 402 (1936); M. Steiger und T. Reichstein, 9. Mitteilung, Helv. **20**, 817 (1937).

²⁾ Prinzipiell wäre allerdings ein und dieselbe Struktur, also (XII) oder (XIII) für beide Stoffe und lediglich Stereoisomerie an C_{11} oder C_{17} nicht ausgeschlossen.

(verursacht durch Substanzmangel) ein Gemisch erhalten, aus dem sich erst mühsam eine ziemlich leicht lösliche Hauptfraktion in kleinen Blättchen vom Smp. 204—206° korr. abtrennen liess, deren Analyse ebenfalls auf das erwartete Diacetat (XIV) oder (XV)



stimmte. (Eine kleine Spitzenfraktion krystallisierte in klaren Spiesen vom Smp. 231—236° korr.) Der Oxydationsversuch gab kein eindeutiges Resultat. Das Acetat von Substanz C (Smp. 204—206) gab nach Oxydation mit Chromsäure ein Produkt von gleichem Aussehen, das aber mit dem Ausgangsprodukt eine geringe Schmelzpunktsdepression zeigte¹⁾. Das in prächtigen Nadeln krystallisierende Acetat von D, von dem leider nur sehr wenig vorhanden war, wurde beim Oxydationsversuch offenbar zu weit abgebaut. Die Hauptmenge wurde als (XVI) gefasst, das durch Sublimation abgetrennt werden kann. Eine kleine Menge schwer sublimierbarer Reste krystallisierte in Blättchen ähnlich wie das Acetat von C, gab aber mit diesem, sowie mit den nach Oxydation von C erhaltenen Blättchen eine Schmelzpunkts-Depression. Für die genaue Aufklärung muss mehr Material abgewartet werden. Diese Substanzen haben auch kein so grosses Interesse, weil ihnen höchst wahrscheinlich keine Cortin-Wirksamkeit zukommt. Dagegen scheint Substanz M Cortin-Wirksamkeit zu besitzen, nur ist die Grösse der nötigen Dosis noch nicht genau ermittelt. Substanz F.a (identisch mit *Kendall's Compound E* sowie *Wintersteiner* und *Pfiffner's Compound F*) soll nach *Kendall*²⁾ mit 2 mg per Tag und Ratte (in 2 Dosen täglich in Öl gegeben) voll wirksam sein. Unser Material war mit 0,8 mg pro Tag und Ratte unwirksam, grössere Dosen standen nicht zur Verfügung.

¹⁾ Ob diese wirklich reell ist, ist nicht ganz sicher, da die Schmelzpunkte der einzelnen Substanzen für sich durch starkes vorübergehendes Verreiben um einige Grade erniedrigt werden. Die Mischung gab aber noch eine geringe weitere Depression.

²⁾ *H. L. Mason, C. S. Myers, E. C. Kendall, J. Biol. Chem.* **116**, 267 (1936).

Da hiemit die Konstitutionsermittlung der ganzen Gruppe bis auf wenige Einzelheiten abgeschlossen ist, soll hier noch eine Übersicht der von den verschiedenen Autoren benützten Buchstabenbezeichnungen gegeben werden. Die in einer Zeile stehenden Verbindungen sind identisch.

<i>Reichstein</i>	<i>Wintersteiner und Pfiffner</i>	<i>Kendall und Mitarb.</i>
Substanz A	Compound A	Compound D
„ C	„ D	„ C ¹⁾
„ D	—	„ G ²⁾
„ E	—	—
„ F.a	Compound F	Compound E
Adreno-steron (G)	—	Ketone 4
Cortico-steron (H)	—	Compound B ³⁾
Dehydro-cortico-steron ⁴⁾	—	„ A
Substanz J	—	—
„ L evtl. ident.	Compound G	—
„ M	evtl. ident.	Compound F ⁵⁾

Compound B von *Wintersteiner* und *Pfiffner* ist nicht sicher identifiziert.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass die drei Arbeitskreise, trotz etwas verschiedener Methodik, ungefähr dieselben Substanzen isolieren konnten. Immerhin ist damit die Frage der Isolierung des wirksamen Hormons aus der Nebenniere noch nicht restlos gelöst.

Trotzdem heute vier natürliche Verbindungen (Substanz F.a, Cortico-steron, Dehydro-cortico-steron und Substanz M nach unserer Nomenklatur) sowie eine künstlich bereitete (Desoxy-cortico-steron) bekannt sind, die Cortin-Wirksamkeit besitzen (Cortico-steron und

¹⁾ Früher in unreinem Zustand von *E. C. Kendall, H. L. Mason, B. F. McKenzie, C. S. Myers, G. A. Koelsche*, Proc. Staff Meetings Mayo Clin. **9**, 245 (1934), als „das Hormon“ der Nebennierenrinde bezeichnet. Dann in unreinem Zustand als Compound C (*H. L. Mason, C. S. Myers, E. C. Kendall*, J. biol. Chem. **114**, 613 (1936)) und als Vorläufer einer Säure $C_{21}H_{34}O_8$ („acid 3“) bezeichnet. In jüngster Zeit rein isoliert (*E. C. Kendall, H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie*, J. biol. Chem. **119**, 1vi (1937)) und als identisch mit unserer Substanz C bezeichnet.

²⁾ *E. C. Kendall, H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie*, J. biol. Chem. **112**, 1vi (Nr. 1) (1937), erwähnen die Isolierung erstmals ohne genaue Beschreibung und stellen die Identität fest.

³⁾ Ursprünglich ist eine bei 135—139° schmelzende Krystallfraktion so bezeichnet worden (*Mason, Myers, Kendall*, J. biol. Chem. **114**, 613 (1936)), später das reine Produkt ebenso (*Kendall, Mason, Hoehn, McKenzie*, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic **12**, 136 (1937)).

⁴⁾ Nicht direkt isoliert, sondern aus Cortico-steron künstlich bereitet, siehe 10. Mitteilung, Helv. **20**, 953 (1937).

⁵⁾ Diese Substanz wird in der letzten Publikation *Kendall's* (vgl. bei ³⁾) nur mit Schmelzpunkt und Bruttoformel $C_{21}H_{30}O_5$ erwähnt, die mit den entsprechenden Daten für Substanz M befriedigend übereinstimmen. Eine Identität ist möglich, aber unsicher.

Desoxy-cortico-steron wirken soweit bestimmt am stärksten), so stellen alle drei Arbeitskreise übereinstimmend fest, dass man aus der Drüse amorphe Fraktionen gewinnen kann, die noch stärker wirksam sind¹⁾. Entweder enthalten diese also noch einen unbekanntes Stoff, der an sich wirksamer ist, oder es sind mindestens zwei Komponenten gleichzeitig für die maximale Wirkung nötig, von denen eine auch bloss ein Aktivator sein kann. Nach der Löslichkeit gehört der wirksamste Stoff wahrscheinlich zur $C_{21}O_5$ -Gruppe (*Kendall*) und da bei der Trennung mit *Girard*-Reagens die ganze Aktivität in der Keto-Fraktion gefunden wird, so ist ferner anzunehmen, dass er wie die anderen ein Keton darstellt.

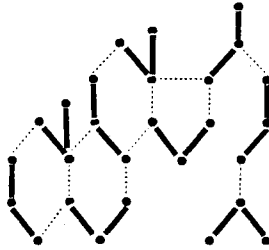
Eventuelle Möglichkeiten für die Biosynthese.

Anschliessend sollen noch einige rein hypothetische Gedanken zur Biosynthese geäußert werden. Trotzdem bisher kein einziger Anhaltspunkt aufgefunden ist, der als Nachweis des Weges dienen könnte, der im Organismus bei der Synthese von Sterinen und verwandten Stoffen beschritten wird, so ist doch die Auffindung dieser stark sauerstoffhaltigen Gruppe von Sterinderivaten als eine Art Indiz für physiologische Untersuchungen auf diesem Gebiet eventuell von Interesse.

Bei den Hormonen der Sterinreihe wurde bisher meist stillschweigend oder ausdrücklich angenommen, dass sie im tierischen Organismus durch oxydativen Abbau aus Cholesterin gebildet werden. Nach Auffindung dieser viel weitergehend mit Sauerstoff beladenen Sterinabkömmlinge aus der Nebenniere, die teilweise noch richtige Zucker-Reste in der Molekel enthalten, scheint jedoch die umgekehrte Auffassung mindestens ebenso berechtigt. Obgleich es unbekannt ist, wo und auf welchem Wege die Sterine im Organismus gebildet werden, dürften Kohlehydrate als Ausgangsmaterial am wahrscheinlichsten sein. Es ist daher mindestens ebenso wahrscheinlich, dass aus den sauerstoffreichen Zuckern zuerst relativ sauerstoffhaltige Zwischenprodukte entstehen, die dann teils zu den Hormonen umgeformt, teils nach weiterer Kondensation zu Cholesterin reduziert werden, als dass zunächst fast völlige Reduktion bis zu Cholesterin und dann wieder Sauerstoffbeladung unter Abbau stattfindet.

¹⁾ *J. J. Pfiffner, O. Wintersteiner und H. M. Vars, J. biol. Chem. 111, 585 (1935)*, beschreiben Konzentrate mit ca. 400 Hundeeinheiten pro mg. Nach *O. Wintersteiner und J. J. Pfiffner, J. biol. Chem. 116, 291 (1936)*, müssen solche Konzentrate erheblich mehr als 14mal stärker sein als Substanz F.a (unserer Nomenklatur). *Kendall, Mason, Hoehn, McKenzie, J. biol. Chem. 119, 1vi (Nr. 1) (1937)*, geben an, dass solche Fraktionen mindestens 10mal wirksamer sind als Cortico-steron. *Reichstein, Helv. 19, 1107 (1936)*, beschrieb Fraktionen, die ca. 2—3mal stärker waren als Cortico-steron. (Dieser Unterschied ist bei der Unsicherheit der Tierversuche allerdings noch nicht beweisend.)

Bemerkenswerterweise besitzen nicht nur die Hormone der C_{21} -Reihe, sondern auch die wichtigsten Sterine und Sterinabkömmlinge des tierischen Organismus wie Cholesterin und die häufigsten Gallensäuren eine durch 3 teilbare Kohlenstoffzahl, und ihr Skelett lässt sich theoretisch leicht in Dreier- oder Dreier- plus Sechser-Kohlenstoffketten zerlegen. Dies ist in nebenstehender, aber nur



in dieser Weise, möglich. Die Möglichkeit, dass sich diese Stoffe direkt aus Zuckern, wie Dioxy-aceton, Glycerinaldehyd etc. ohne Kohlenstoffverlust bilden, ist also prinzipiell gegeben. Dies steht nicht in Widerspruch zu dem interessanten Befund von *D. Rittenberg*¹⁾, da die Wasserstoffatome des Dioxy-acetons wegen ihrer Enolisierbarkeit gegen Deuterium austauschbar sind.

Bei den Hormonen und Steroiden der C_{19} - und C_{18} -Reihe müsste man allerdings weiter annehmen, dass sie durch Abbau, wahrscheinlich aus den C_{21} -Stoffen entstehen. Diese Annahme wäre aber naheliegender als die weitergehende, das Cholesterin als Ausgangssubstanz aufzufassen. Ebenso müssten bei den pflanzlichen Sterinen zusätzliche Annahmen gemacht werden. Die Pflanze verfügt aber nicht nur über andere Zucker (beispielsweise solche der 5-Kohlenstoffreihe), sondern überhaupt über vielseitigere synthetische Möglichkeiten als der tierische Organismus.

Ich verdanke die Unterstützung dieser Arbeit der *Haco-Gesellschaft*, Gümligen, sowie der *N.V. Organon*, Oss.

Experimenteller Teil.

Substanz E (IV).

Von dieser Substanz war früher nur das Semicarbazon analysiert worden, daher werden hier die Verbrennungswerte des freien Tetraoxy-ketons gegeben. Zur Vorreinigung wurde die Substanz wie früher aus Aceton-Toluol plus einer Spur Wasser umkrystallisiert, wobei

¹⁾ *D. Rittenberg*, J. biol. Chem. 119 (Nr. 1) (1937), beschreibt Versuche an Mäusen, bei denen in den Körperflüssigkeiten ein konstanter Gehalt von 1,5 Atomproz. Deuterium aufrecht erhalten wurde. Nach 60 Tagen war im Cholesterin dieser Tiere das Verhältnis von Deuterium zu Protium halb so gross wie in den Körperflüssigkeiten. Es sind also mindestens 22 Wasserstoffatome des Cholesterins in irgendeiner Phase der Biosynthese gegen Deuterium austauschbar. Diese Tatsache wird so interpretiert, dass Cholesterin im Organismus aus kleinen Einheiten aufgebaut wird.

sich das Hydrat langsam in schönen Krystallen abscheidet. Dann wurde aus wenig Aceton durch Zusatz von Wasser und Einengen krystallisiert, wobei langsam Nadelbüschel erhalten werden. Diese wurden zur Analyse nochmals aus wenig Aceton allein umkrystallisiert und in feinen, teilweise zu Büscheln vereinigten Nadeln erhalten, die mit einer Mischung von Aceton und Äther gewaschen wurden. Das Produkt enthält in lufttrockenem Zustand 1 Mol Krystallwasser und schmilzt immer unscharf gegen 120° unter Zersetzung (Wasserabgabe), wobei der Schmelzpunkt von der Art des Verreibens und der Erhitzungsgeschwindigkeit abhängig ist. Die grüne Fluoreszenzreaktion mit konz. Schwefelsäure nach *Wintersteiner* ist sehr stark, aber weniger haltbar als bei Substanz M, F.a und Cortico-steron, sie verblasst rascher unter Braunfärbung.

4,37 mg Subst. (lufttrocken) gaben 10,59 mg CO₂ und 3,514 mg H₂O
 $C_{21}H_{32}O_5 \cdot H_2O$ (382,27) Ber. C 65,93 H 8,97%
 Gef. „ 66,09 „ 8,96%

Eine andere Probe wurde im Platinschiffchen im Hochvakuum $\frac{3}{4}$ Stunden bei 80—100° getrocknet, dann weiter im Hochvakuum zum Schmelzen und noch bis 150° erhitzt, 5 Minuten bei dieser Temperatur belassen, allmählich abgekühlt und nach Einlassen von trockener Luft sofort ins Schweinchen übergeführt und in diesem gewogen. Die trockene Substanz ist sehr hygroskopisch.

4,246 mg Subst. (trocken) gaben 10,80 mg CO₂ und 3,20 mg H₂O
 $C_{21}H_{32}O_5$ (364,26) Ber. C 69,18 H 8,87%
 Gef. „ 69,37 „ 8,44%

Δ₄-Androsten-11-ol-3,17-dion (VII) aus Substanz E.

25 mg Substanz E wurden in 1,5 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 40 mg Perjodsäure in 0,3 cm³ Wasser versetzt. Nach 20 Stunden wurde mit etwas Wasser verdünnt, das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Essigester und Äther ausgeschüttelt und die Auszüge mit Wasser und Soda gewaschen und mit Sulfat getrocknet. Das beim Eindampfen krystallisiert hinterbleibende Neutralprodukt wurde aus viel Äther durch Einengen umkrystallisiert, im Hochvakuum bei 0,01 mm und 160° Badtemperatur sublimiert und nochmals aus Äther unter Zusatz von Pentan umkrystallisiert. Es wurden ca. 12 mg Büschel feiner Nadeln erhalten, die bei 189—191° korr. schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert. Das Produkt ist hygroskopisch.

1,540 mg Subst. gaben 4,27 mg CO₂ und 1,20 mg H₂O
 $C_{11}H_{26}O_3$ (302,21) Ber. C 75,45 H 8,68%
 Gef. „ 75,62 „ 8,72%

Eine Probe wurde in Eisessig mit Chromsäure 16 Stunden bei Zimmertemperatur oxydiert. Bei der Aufarbeitung wurde das Neutralprodukt aus Äther in Blättchen erhalten, die bei 219—222°

korr. schmolzen und mit Adreno-steron keine Schmelzpunkts-Depression gaben.

Adreno-steron (VI) aus Substanz M.

10 mg Substanz M wurden in etwas reinstem Eisessig gelöst, und in der Kälte mit der Lösung von 12 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ Eisessig versetzt. Der sogleich ausfallende orangebraune Niederschlag ging beim Stehen bei Zimmertemperatur allmählich in Lösung. Nach 20 Stunden wurde im Vakuum eingeengt, mit Wasser versetzt und mit einer reichlichen Menge frischdestillierten Äthers ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure und mit Natronlauge gewaschen, getrocknet und hierauf stark eingeengt. Es krystallisierten 5 mg Blättchen vom Smp. 217—222° korr., die mit Adreno-steron keine Schmelzpunkts-Depression gaben.

Δ⁴-Androsten-11-ol-3,17-dion (VII) aus Substanz M.

20 mg reinste Substanz M wurden mit 2,75 cm³ 0,1-n. Bleitetraacetatlösung in reinstem Eisessig unter Feuchtigkeitsausschluss 1 ½ Stunden auf 50° erwärmt, wobei die Substanz allmählich in Lösung ging. Hierauf wurde im Vakuum stark eingeengt, mit Wasser versetzt, mit Essigester und Äther ausgeschüttelt und der Auszug neutral gewaschen. Nach dem Trocknen wurden die Lösungsmittel abgedampft und der harzige Rückstand im Hochvakuum bei 0,01 mm und 180° Badtemperatur im Molekularkolben destilliert. Das ca. 4 mg betragende Destillat wurde in wenig Äther gelöst, mit Pentan gefällt und die durch Dekantieren der klaren Lösung abgetrennte Fällung nochmals analog umgefällt. Die klaren Lösungen wurden auf ein ganz kleines Volumen eingedampft und die dadurch hervorgerufene Trübung mit einer Spur Äther gelöst. Nach Verschliessen des Röhrchens krystallisierten aus der klaren Lösung bald Nadelbüschel, die mit Äther-Pentan gewaschen wurden. Die Ausbeute betrug 0,5 mg. Der Schmelzpunkt lag bei 190 bis 192° korr., die Mischprobe mit dem gleichschmelzenden Produkt (VII) aus Substanz E gab keine Depression.

Acetat von Substanz M (X).

40 mg Substanz M (VIII), 200 mg Essigsäure-anhydrid und 40 mg Pyridin wurden vermischt, wobei allmählich Lösung eintrat; die Mischung wurde 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand krystallisierte nach Zusatz von Äther sofort. Die Krystalle wurden mit Äther gewaschen, in dem sie recht schwer löslich sind. Sie schmolzen bei 216—220° korr. Aus viel Essigester durch Einengen wurden Drusen glänzender Spiesse vom Smp. 219—222° korr. erhalten. Diese wurden nochmals aus Aceton umkrystallisiert und

mit Äther gewaschen. Es wurden schön ausgebildete Stäbchen erhalten, deren eines Ende oft gerade abgeschnitten, das andere doppelt zugespitzt war. Der Smp. war 223—225° korr. Zur Analyse wurde eine Stunde bei 120° im Hochvakuum getrocknet. Das Produkt war leicht hygroskopisch.

4,774 mg Subst. gaben 11,89 mg CO ₂ und 3,30 mg H ₂ O		
C ₂₃ H ₃₂ O ₆ (404,26) Mono-acetat	Ber. C 68,29	H 7,99%
C ₂₅ H ₃₄ O ₇ (446,27) Di-acetat	Ber. „ 67,25	„ 7,68%
	Gef. „ 67,92	„ 7,74%

Ein Mono-acetat ist daher viel wahrscheinlicher, besonders wenn man berücksichtigt, dass das Produkt etwas hygroskopisch ist und ohne Schweinchen gewogen wurde. Dies wird auch durch die Analyse des Oxydationsproduktes (vgl. weiter unten) bestätigt. Die Mischprobe mit dem bei ca. 240° schmelzenden Acetat der Substanz F.a schmolz bei 209—215°, gab also deutliche Depression.

Versuch zur Oxydation des Acetates der Substanz M mit Perjodsäure.

Der Versuch wurde unternommen, um zu prüfen, ob Ketole der Formel >COH—CO—R, also mit tertiärem Hydroxyl, von Perjodsäure angegriffen werden. Dies gäbe eine einfache Methode zur Abspaltung der Seitenkette. Das Reagens war jedoch ohne jede Wirkung.

10 mg des Acetates (X) wurden in der eben nötigen Menge Methanol gelöst und mit 20 mg Perjodsäure, in wenig Wasser gelöst, versetzt und 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Einengen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt, mit viel reinstem Essigester ausgeschüttelt und mit Soda und Wasser neutral gewaschen. Beim Eindampfen wurden 8 mg unverändertes Material zurückerhalten.

Acetat von Substanz F.a (XI).

20 mg Substanz F.a (IX), 100 mg Essigsäure-anhydrid und 200 mg Pyridin wurden 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt, mit reinstem, frisch destilliertem Essigester ausgeschüttelt und mit etwas verdünnter Salzsäure und Sodalösung, dann mit Wasser gewaschen. Die getrocknete Lösung wurde stark eingedampft, worauf das Produkt bald auskrystallisierte. Es wurde mit Äther gewaschen, schmolz aber noch unscharf bei 226—243° korr. Es wurde daher nochmals aus wenig Aceton umkrystallisiert. Die Hauptmenge wurde in flachen, beidseitig zugespitzten Nadeln erhalten, die bei 70—100° opak wurden und bei 239—241° korr. schmolzen. Dies ist das richtige Mono-acetat (Analyse siehe weiter unten). Aus den Mutterlaugen wurde neben weiteren Mengen desselben Produktes noch eine kleine Menge eines Nebenproduktes isoliert, das in Körn-

chen vom Smp. 221,5—223° korr. krystallisierte. Die Menge reichte für eine Analyse nicht aus.

Acetat von Substanz F.a (XI) aus Acetat von Substanz M (X).

10 mg des Acetates (X) vom Smp. 223° korr. wurden in wenig reinstem Eisessig gelöst und, mit der Lösung von 5 mg Chromtrioxyd in 0,5 cm³ Eisessig versetzt, 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Einengen im Vakuum bei 20° Badtemperatur wurde mit Wasser versetzt und mit reinstem Essigester ausgeschüttelt. Die Essigesterlösung wurde mit wässriger Schwefelsäure und Soda gewaschen, getrocknet und stark eingeeengt. Das bald auskrystallisierende Produkt wurde mit Äther gewaschen, es schmolz bei 224—234° korr. Nach Umkrystallisieren aus wenig Aceton wurden flache Nadeln erhalten, die mit Äther gewaschen wurden. Ausbeute 5 mg. Das Produkt wurde zwischen 70 und 100° opak und schmolz bei 239—241° korr., ebenso wie das direkt aus Substanz F.a erhaltene (XI), und gab mit diesem keine Schmelzpunkts-Depression. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 0,01 mm und 110° getrocknet. Das Produkt war nicht hygroskopisch.

2,484 mg Subst. gaben 6,26 mg CO ₂ und 1,63 mg H ₂ O			
C ₂₃ H ₃₀ O ₆ (402,24) Mono-acetat	Ber. C	68,61	H 7,52%
C ₂₅ H ₃₂ O ₇ (444,26) Di-acetat	Ber. „	67,55	„ 7,27%
	Gef. „	68,51	„ 7,34%

Demnach liegt ein Mono-acetat vor.

Acetat von Substanz D (XIV) oder (XV).

10 mg Substanz D wurden mit 40 mg Essigsäure-anhydrid und 80 mg Pyridin vermischt, worauf allmählich Lösung eintrat. Die Mischung wurde 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wobei bereits ein Teil auskrystallisierte. Nach Entfernung aller flüchtigen Anteile im Vakuum bei 40° wurde der krystallisierte Rückstand mit Äther gewaschen. Das Rohprodukt schmolz bei 217—220° korr. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Essigester wurden schöne Nadeln erhalten, von denen einige beim Erwärmen klar blieben, andere bei ca. 90° opak wurden, beide schmolzen bei 224—226° korr. Das Produkt ist in Aceton recht leicht löslich. Zur Analyse wurde eine Stunde bei 0,01 mm und 120° getrocknet. Das Produkt war nicht hygroskopisch.

2,864 mg Subst. gaben 7,005 mg CO ₂ und 2,07 mg H ₂ O			
C ₂₅ H ₃₆ O ₇ (448,29) Di-acetat von (XIII)	Ber. C	66,92	H 8,10%
C ₂₅ H ₃₈ O ₇ (450,30) „ „ (XII)	Ber. „	66,63	„ 8,51%
C ₂₇ H ₃₈ O ₈ (490,30) Tri-acetat „ (XIII)	Ber. „	66,08	„ 7,81%
C ₂₇ H ₄₀ O ₈ (492,32) „ „ (XII)	Ber. „	65,81	„ 8,20%
	Gef. „	66,70	„ 8,08%

Es dürfte somit, wie erwartet, ein Di-acetat vorliegen.

Acetat von Substanz C (XIV) oder (XV).

32 mg Substanz C (nicht ganz rein), 120 mg Essigsäure-anhydrid und 240 mg Pyridin wurden vermischt und durch vorsichtiges Wärmen auf ca. 40—50° in Lösung gebracht. Hierauf wurde 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Äther aufgenommen, in dem er sich leicht löste. Die Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure und Soda neutral gewaschen, getrocknet, stark eingeengt und mit Pentan bis zur Trübung versetzt. Nach 12-stündigem Stehen schieden sich allmählich kugelige Drusen aus, die sich bei weiterem vorsichtigem Pentanzusatz stark vermehrten, bis fast alles Material auskrystallisiert war. Die Drusen wurden durch Dekantieren mit einer Mischung von Äther und Pentan gewaschen. Sie schmolzen unscharf bei 200—230° korr. Das Produkt ist nicht nur in Aceton, sondern zum Unterschied von allen anderen obengenannten Acetaten auch in Essigester sehr leicht löslich. Eine Trennung gelang folgendermassen: Die ganze Menge (ca. 34 mg) wurde in wenig Aceton gelöst und rasch im Vakuum eingedampft. Der harzige Rückstand wurde in wenig Äther gelöst und gut verschlossen stehengelassen. Nach einer Stunde hatte sich ein in Äther schwer lösliches Pulver ausgeschieden, das abgetrennt und mit Äther gewaschen wurde (Fraktion I vom Smp. 214—220° korr.). Aus der stark eingeengten Ätherlösung wurden mehrere Fraktionen, teils nach Zusatz von Pentan, erhalten, die sich recht langsam in Blättchen oder zu Drusen vereinigten Blättchen ausschieden und bei ca. 197—210° schmolzen (Fraktion II, diese stellt bei weitem die Hauptmenge dar).

Fraktion I (ca. 4 mg) gab nach Lösen in Aceton, Eindampfen im Vakuum und Aufnehmen in Äther über Nacht ca. 1 mg glänzende Spiesse vom Smp. 231—236° korr. Für die Untersuchung war die Menge nicht ausreichend. Die Mutterlauge gab nach Einengen und Zusatz von Pentan sehr langsam weitere Krystalle, die aber hauptsächlich aus Blättchen, ähnlich wie Fraktion II, bestanden. Fraktion II wurde nochmals aus Äther durch starkes Einengen oder aus sehr wenig Benzol krystallisiert. Es wurden Blättchen vom Smp. ca. 204—206° korr. erhalten. Stark verriebene Proben schmolzen bei 198—204° korr. Es ist unsicher, ob das Präparat ganz einheitlich ist. Zur Analyse wurde eine Stunde im Hochvakuum bei 120° getrocknet. Das Produkt war nicht hygroskopisch.

3,498 mg Subst. gaben 8,54 mg CO₂ und 2,58 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₈ O ₇ (450,30)	Di-acetat von (XII)	Ber. C 66,36	H 8,51%
C ₂₅ H ₃₆ O ₇ (448,29)	„ „ (XIII)	Ber. „ 66,92	„ 8,10%
		Gef. „ 66,59	„ 8,25%

Es dürfte somit wieder ein Di-acetat vorliegen.

Versuch zur Oxydation des Acetats von Substanz C.

Eine Probe (15 mg) des Di-acetates (vom Smp. 197—216°) wurde wie beim Acetat von M beschrieben in Eisessig mit Chromsäure oxydiert. Die Aufarbeitung mit Äther ergab ein langsam aus Äther in Blättchen krystallisierendes Produkt vom Smp. 210—216° korr. Die Mischprobe mit dem nicht oxydierten reinsten Acetat von C, das stark verrieben den Smp. 202—205° korr. zeigte, schmolz bei 198—203° korr. Identität ist also nicht ausgeschlossen, aber unsicher.

Versuch zur Oxydation des Acetats von Substanz D.

Ca. 4 mg des Acetates wurden in Eisessig mit ca. 4 mg Chromtrioxyd 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und wie oben aufgearbeitet. Das Neutralprodukt bestand deutlich aus 2 verschiedenen Komponenten, von denen die tiefer schmelzende sich im Hochvakuum sublimieren liess und so abgetrennt werden konnte. Nach der Sublimation wurden aus Äther-Pentan Nadeln vom Smp. 162—164° korr. erhalten, die mit dem bei 164—165° korr. schmelzenden Androstan-3-ol-11,17-dion-acetat (XVI)¹⁾ keine Schmelzpunkts-Depression gaben. Der schwerer lösliche und bis 160° bei 0,01 mm nicht sublimierende Teil wurde aus Äther-Pentan in Blättchen vom Smp. 207—210° korr. erhalten. Die Ausbeute betrug nur ca. 0,2 mg. Die Hauptmenge ist zu weit oxydiert worden, offenbar weil zuviel Chromsäure angewandt wurde. Die Mischprobe mit dem C-Acetat vom Smp. 198—204° korr. (stark verrieben) schmolz bei 187—195° korr. Die Mischprobe mit dem oxydierten C-Acetat vom Smp. 210—216° korr. schmolz bei 199—205° korr. Die Identität ist unwahrscheinlich, aber der Versuch ist wegen der geringen Ausbeuten und der relativ schlechten Krystallisierbarkeit des Produktes unsicher.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. *H. Gysel* im Mikroanalytischen Laboratorium des Institutes (Leitung Priv.-Doz. Dr. *M. Furter*) ausgeführt.

Laboratorium für organische Chemie,
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

¹⁾ *M. Steiger* und *T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 817 (1937).