

f) Derselbe Ansatz wie bei e) wurde 45 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab reines Oxyketon. Es ist also nach dieser Zeit praktisch völlige Verseifung eingetreten.

Die mildesten Bedingungen unter denen die 3-ständige Acetoxygruppe praktisch vollständig verseift wird, sind also die unter c) und unter f) angewandten.

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

134. Über Bestandteile der Nebennierenrinde

(19. Mitteilung)¹⁾.

Die Substanzen N und P, sowie Beobachtungen zur Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17

von T. Reichstein und K. Gätzl.

(23. VIII. 38.)

In einer früheren Mitteilung²⁾ wurde unter anderem die Substanz N sowie ein reduzierendes Acetat vom Smp. 210° korr. beschrieben. Da es sich inzwischen herausgestellt hat, dass dem letzteren wirklich eine neue Substanz zugrunde liegt, so soll diese eine besondere Bezeichnung erhalten, und zwar wird sie Substanz P genannt. In vorliegender Arbeit werden die Konstitutionen von N und P mitgeteilt sowie einige Beobachtungen betreffend die Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17 angegeben.

Die Konstitution von Substanz N brauchte nicht besonders ermittelt zu werden. Der Stoff erwies sich nämlich, wie bereits vermutet, als identisch mit Compound H von *Kendall* und Mitarbeitern³⁾, für den diese Autoren die Formel I bewiesen haben⁴⁾. Durch eine von Dr. *Kendall* freundlichst zur Verfügung gestellte Probe konnte die Identität sichergestellt werden. Da die Mischproben bei freien Alkoholen in dieser Reihe nicht immer zuverlässig sind, so wurden beide Präparate in die bei 149° korr. schmelzenden Diacetate (II) übergeführt, die sich als identisch erwiesen. Eine weitere Bestätigung

¹⁾ 18. Mitteilung: T. Reichstein, J. v. Euw, Helv. **21**, 1181 (1938).

²⁾ M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 546 (1938).

³⁾ H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **120**, 719 (1937).

⁴⁾ Selbstverständlich beschränkt sich der Konstitutionsbeweis auch hier nur auf die Verknüpfung mit den anderen bekannten Stoffen dieser Reihe und auf die Festlegung der Funktion der Sauerstoffatome. Ein sicherer Beweis dafür, dass die in 3- und 11-Stellung formulierte Hydroxyl- und Keto-gruppe sich wirklich dort befindet, liegt nicht vor.

Die bisher in der Literatur beschriebenen, durch Anlagerung von Acetylen oder Äthyl-Magnesium-halogenid an trans-Androsteron oder trans-Dehydro-androsteron bereiteten Pregnan-Derivate¹⁾ besitzen alle in 17-Stellung dieselbe Konfiguration, da sie sich durch völlige Hydrierung in ein und dasselbe Allo-pregnan-diol-(3,17) (X) vom Smp. 205^{0 2)} überführen lassen³⁾.

Es wird vorgeschlagen, die Reihe, der diese Verbindungen angehören, als 17(α)-Reihe zu bezeichnen und die Konfiguration des Kohlenstoffatoms Nr. 17 entsprechend den Formeln (IX)—(XII) zu schreiben. Die aus Nebennieren isolierten Substanzen K und P sowie das neue durch Reduktion von P erhaltene Tetrol gehören dann der 17(β)-Reihe an und sollen wie in den Formeln (III), (IV), (V), (VII) und (VIII) geschrieben werden. Dieser Vorschlag bezweckt lediglich, die gegenseitigen Beziehungen, soweit festgestellt, schematisch wiederzugeben; über die absolute Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17 soll damit nichts ausgesagt werden.

Es mag noch besonders hervorgehoben werden, dass alle bisher bekannten Vertreter der 17(α)-Reihe (nämlich IX, X, XI oder XII, die entsprechenden Δ^5 -ungesättigten Verbindungen und die 3(trans), 17(α)-Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure⁴⁾ sowie ihr Methylester) mit Digigitonin auch in 60-proz. Methanol-lösung keine schwer lösliche Fällung geben, obwohl sie in 3-Stellung eine Hydroxylgruppe in „Cholestanolstellung“ enthalten. Alle bisher bekannten Vertreter der 3(trans),

¹⁾ Beispielsweise die folgenden:

17-Äthinyl-androstan-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 257⁰ uncorr. *J. Kathol, W. Logemann, A. Serini, Naturwiss. 25, 682 (1937).*

17-Äthinyl-androsten-(5)-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 240⁰ korr. *L. Ruzicka, K. Hofmann, Helv. 20, 1280 (1937)* vgl. auch *Kathol, Logemann, Serini* wie oben.

17-Vinyl-androstan-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 207⁰ uncorr. *A. Serini, W. Logemann, B. 71, 1362 (1938).*

17-Vinyl-androsten-(5)-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 184⁰. *L. Ruzicka, K. Hofmann, H. F. Meldahl, Helv. 21, 373, 597 (1938); H. H. Inhoffen, W. Logemann, W. Hohlweg, A. Serini, B. 71, 1024 (1938).*

17-Äthyl-androstan-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 205⁰. *L. Ruzicka, M. W. Goldberg, H. R. Rosenberg, Helv. 18, 1487 (1935); vgl. Helv. 19, 357 (1936).*

17-Äthyl-androsten-(5)-diol-(3-trans. 17 ?) Smp. 199⁰. *L. Ruzicka, H. R. Rosenberg, Helv. 19, 357 (1936); A. Butenandt, H. Cobler, J. Schmidt, B. 69, 448 (1936).*

²⁾ *L. Ruzicka, M. W. Goldberg, H. R. Rosenberg, Helv. 18, 1487 (1935); vgl. L. Ruzicka, H. R. Rosenberg, Helv. 19, 357 (1936).*

³⁾ *L. Ruzicka, K. Hofmann, H. F. Meldahl, Helv. 21, 597 (1938).* Lediglich die Hydrierung des 17-Äthyl-androsten-(5)-diols-(3,17) zum völlig gesättigten Allo-pregnan-diol (X) ist unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben worden. Zur Sicherheit wurde auch diese Reaktion durchgeführt. Das entstandene Allo-pregnan-diol-(3,17) (X) war identisch mit einem durch Hydrierung von 17-Äthinyl-androstan-diol-(3,17) (IX) gewonnenen Präparat, nur zeigten beide unter den von uns benützten Bedingungen (*Kofler-Block* und *Reichert-Mikroskop*) einen Smp. 221—222⁰ korr., während in der Literatur 205⁰ korr. angegeben wird (vgl. Anm. 2).

⁴⁾ *L. Ruzicka, K. Hofmann, Helv. 21, 88 (1938); J. Kathol, W. Logemann, A. Serini, Naturwiss. 25, 682 (1937).*

17(β)-Reihe dagegen werden von Digitonin unter diesen Bedingungen schon in der Hitze sofort gefällt. Dies gilt insbesondere für (IV), (V), (VII) und (VIII).

Dass die räumliche Lage eines Substituenten am Kohlenstoffatom Nr. 17 auf die Fällbarkeit eines Steroids mit Digitonin von Einfluss ist, wurde schon mehrmals beobachtet. So heben *Butenandt* und *Fleischer*¹⁾ hervor, dass das 17-Iso-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20) von Digitonin nicht gefällt wird, während das länger bekannte stabilere Isomere mit der umgekehrten Konfiguration an C-Atom Nr. 17 leicht gefällt wird²⁾. Für die zwei in 17-Stellung isomeren Oestradiole und ihre 3-Monobenzoate stellte *O. Wintersteiner*³⁾ fest, dass nur die 17(α)-Formen von Digitonin in 80-proz. Alkohol gefällt werden. Aus diesen Beobachtungen geht hervor, dass sowohl eine Oxygruppe wie ein Acetylrest in 17-Stellung je nach der räumlichen Lage die Fällbarkeit mit Digitonin stark beeinflusst.

Da alle bisher aus Nebennieren isolierten Stoffe, soweit sie 3,17-Dioxy-allo-pregnan-Derivate darstellen, mit Digitonin fällbar sind, kann die Arbeitshypothese aufgestellt werden, dass sie alle der 17(β)-Reihe angehören. Da jedoch Aussagen, die auf der Fällbarkeit eines Stoffes mit Digitonin beruhen, stets mit einer grossen Unsicherheit behaftet sind, so muss diese Arbeitshypothese in den verschiedenen Fällen noch exakt bewiesen werden. Versuche dazu sind im Gange.

Experimenteller Teil.

Diacetat von Substanz N (II).

14 mg Substanz N⁴⁾ wurden in 0,5 cm³ trockenem Pyridin gelöst, mit 0,3 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, mit etwas Wasser versetzt und nochmals eingedampft. Der krystalline Rückstand wurde in Benzol gelöst, die Lösung mit Äther verdünnt, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde dreimal aus Äther-Pentan umkrystallisiert und gab zu Drusen vereinigte Nadeln vom Smp. 148—149,5° korr. Aus Benzol-Benzin wurden Nadelrosetten erhalten, die bei 70° stark opak wurden und bei 147—148,5° korr. schmolzen.

¹⁾ *A. Butenandt, G. Fleischer, B. 70, 96 (1937).*

²⁾ Bei den zwei analogen in 17-Stellung isomeren Allo-pregnanolonen-(3,20) sind dagegen beide Formen mit Digitonin fällbar. *A. Butenandt, L. Mamoli, B. 68, 1847 (1935).*

³⁾ *O. Wintersteiner, Am. Soc. 59, 765 (1937); B. Whitman, O. Wintersteiner, E. Schwenk, J. Biol. Chem. 118, 789 (1937); A. Butenandt, C. Georgens, Z. physiol. Ch. 248, 129 (1937).*

⁴⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 546 (1938).*

Eine Probe von 4 mg „Compound H“¹⁾, die von Hrn. Dr. *Kendall* freundlichst übersandt war, wurde genau gleich acetyliert und gab ein identisches Acetat. Die Mischprobe gab keine Depression. Auch die freien Oxy-ketone gaben bei der Mischprobe keine Depression.

Oxydationsversuch mit Chromsäure. 9 mg Acetat (II) wurden in 0,5 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 2,5 mg Chromtrioxyd in 0,125 cm³ Eisessig versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die orange gebliebene Lösung wurde im Vakuum eingedampft (20° Badtemperatur), der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde neutral gewaschen, getrocknet, eingengt und mit Pentan versetzt. Es krystallisierten zu Drusen vereinigte Nadeln vom Smp. 147,5—148,5° korr., die nach der Mischprobe mit dem Ausgangsprodukt identisch waren.

Isolierung weiterer Mengen des Acetates von Substanz P (III).

Die in der 17. Mitteilung²⁾ als reduzierendes Acetat vom Smp. 210° korr. beschriebene Substanz, die jetzt als Diacetat von Substanz P bezeichnet wird, wurde s. Zt. nur in relativ kleinen Mengen erhalten. Etwas mehr davon liess sich wie folgt gewinnen, wobei daneben noch etwas Acetat der Substanz O²⁾ erhalten wurde:

Die öligen Mutterlaugen des „ketonfreien Ätherrests“, aus denen die direkt krystallisierenden Anteile des Gemisches der Substanzen J, O, K und P abgetrennt waren²⁾, wurden als Rohmaterial verwendet. 7 g davon wurden zur Entfernung vorhandener Ester (insbesondere auch partiell acylierter Glycerine) zunächst in 550 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 7 g Kaliumbicarbonat in 150 cm³ Wasser versetzt und 55 Minuten unter Rückfluss gekocht³⁾. (Aus partiell acetylierten Glycerinen entstehen dabei vorwiegend die Methyl ester der Säuren neben freiem Glycerin.) Dann wurde das Methanol im Vakuum völlig entfernt und der dunkle wässrige Rückstand dreimal mit je 400 cm³ frisch destilliertem Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden mit etwas Soda, dann dreimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wog 6 g. Er wurde in 75 cm³ trockenem Pyridin gelöst, mit 50 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Soda und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es verblieben 6,6 g acetyliertes Material.

¹⁾ *H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. Mc. Kenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem.* **120**, 719 (1937).

²⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv.* **21**, 546 (1938).

³⁾ *T. Reichstein, J. v. Euv, Helv.* **21**, 1181 (1938).

6,5 g davon wurden in 5 cm³ absolutem Benzol gelöst und nach Zusatz von 50 cm³ Pentan auf eine mit Pentan bereitete Säule von 180 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) gegossen. Es wurde nach der Durchlaufmethode getrennt, und zwar mit je 200 cm³ der folgend genannten Lösungsmittel nachgewaschen und jedes Filtrat für sich ganz eingedampft und gewogen.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Gewicht des Rückstandes	Eigenschaften
1	Pentan	0,1 g	flüssig
2	Pentan	0,2	ölig
3	Pentan	0,9	ölig
4	Pentan	0,6	ölig
5	Pentan	0,3	ölig
6	Pentan	0,1	ölig
7	Pentan	0,1	ölig
8—11	80% Pentan, 20% Benzol	0,25	ölig
12	Abs. Benzol	0,3	ölig
13	Abs. Benzol	0,4	ölig
14	Abs. Benzol	0,2	ölig
15	Abs. Benzol	0,1	ölig
16	Abs. Äther	1,1	krystallisiert
17	Abs. Äther	0,5	krystallisiert
18	Abs. Äther	0,2	krystallisiert
19	Abs. Äther	0,1	kryst. wenig
20	Aceton	0,5	amorph, braun
21	Aceton	0,1	amorph, braun
22	Aceton	0,1	amorph, braun
Total zurückerhalten		6,15 g	

Die Fraktionen 1—11 wurden vereinigt. Sie bestanden zur Hauptsache aus den Methylestern höherer Fettsäuren. Von den 2,5 g destillierten 2,3 g unter 0,05 mm Druck im *Claisen*-Kolben bei 120—140°. Die alkalische Verseifung des Destillats gab 2 g Fettsäuregemisch, etwa 0,2 g Neutrales und 0,1 g Phenolfraktion. Diese Anteile wurden nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 12—15 wurden vereinigt (1,0 g). Es konnte bisher daraus noch keine reine Substanz erhalten werden.

Die Fraktion 16 krystallisierte sofort und gab aus Äther-Pentan reines Acetat der Substanz O vom Smp. 250° korr.

Die Fraktionen 17—19 (zusammen 1,9 g) krystallisierten ebenfalls und lieferten nach der Reinigung das Acetat der Substanz P vom Smp. 210°.

Eine weitere Menge von 9 g nicht mehr krystallisierender Mutterlaugen von „ketonfreiem Ätherrest“ wurde genau analog aufgear-

beitet. Es resultierten 8 g acetyliertes Material, die über 240 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurden. Jede Fraktion entsprach dem Trockenrückstand von 300 cm³ Filtrat. Fraktionen mit denselben Eigenschaften wurden vereinigt. Es ergab sich dabei:

0,8 g Material aus Fraktion 1—8 (eluiert mit Pentan, sowie mit einer Mischung von 20% absolutem Benzol und 80% Pentan), bestehend aus Fettsäure-methylestern. Dieses wurde verworfen.

2,0 g Material aus Fraktion 9—15 (eluiert mit absolutem Benzol). Dieses krystallisierte nicht und wurde noch nicht weiter untersucht.

2,3 g Material aus Fraktion 16—18 (eluiert mit absolutem Äther). Dieses krystallisierte teilweise und ergab 265 mg reines O-acetat vom Smp. 250° korr.

0,9 g Material aus Fraktion 19—25 (eluiert mit absolutem Äther). Dieses krystallisierte weitgehend und lieferte 120 mg reines P-acetat vom Smp. 210° korr.

0,5 g Material aus Fraktion 26 und 27 (eluiert mit einer Mischung von 10% Aceton und 90% absolutem Äther). Dieses gab noch etwas Krystalle, aus denen sich 13 mg reines P-acetat abscheiden liessen.

1,4 g Material aus Fraktion 28—34 (eluiert mit obiger Mischung, sowie mit reinem Aceton). Dieses stellte ein braunes Harz dar, aus dem vorläufig kein krystallisiertes Material gewonnen wurde.

Die totale Ausbeute betrug 7,9 g. Aus dieser und der vorigen Portion wurden zusammen 400 mg reines O-acetat und 213 mg reines P-acetat erhalten. Zur Abscheidung des letzteren wurden die genannten Fraktionen entweder aus Benzol-Pentan oder manchmal vorteilhafter aus Methanol krystallisiert, in dem das P-acetat sehr schwer löslich ist. Die vorgereinigten P-acetate, die mindestens bei 200° oder darüber schmolzen, wurden vereinigt und im Molekular Kolben bei 0,01 mm Druck und 200° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat wurde aus wenig Benzol umkrystallisiert. Die reine Substanz schmolz dann bei 210—211° korr.

Freie Substanz P (IV).

130 mg sublimiertes Acetat der Substanz P (III) vom Smp. 210—211° korr. wurden in 40 cm³ Methanol heiss gelöst (fast gesättigte Lösung!), mit 5,2 cm³ einer 5-proz. wässrigen Lösung von Kaliumbicarbonat versetzt und 1 ½ Stunden unter Rückfluss gekocht. Es trat nur ganz leichte Gelbfärbung ein. Dann wurde mit etwas Wasser verdünnt und im Vakuum völlig von Methanol befreit. Dabei fielen leicht klebrige Krystalle aus, die nach ½-stündigem Stehen abgenutscht, mit etwas Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden. Sie schmolzen roh bei 190—210°. Zur Reinigung wurden sie in wenig Aceton gelöst und mit der 10-fachen Menge absoluten Äthers versetzt. Die ausfallenden Flocken wurden durch Filtration entfernt und die klare Lösung stark eingeengt. Es trat bald Krystallisation ein. Die Krystalle wurden abgenutscht, mit acetonhaltigem Äther, dann mit reinem Äther gewaschen. Erhalten wurden 42 mg Nadeln vom Smp. 224—235° korr. unter Zersetzung. Durch Eindampfen der Mutterlaugen wurde tieferschmelzendes Material erhalten, das für Abbaureaktionen verwendet wurde.

Die 42 mg wurden zur Analyse aus wenig absolutem Alkohol umkrystallisiert und gaben 10 mg farbloser, dünner, zugespitzter Nadeln vom Smp. 230—239° korr. unter Zersetzung und einer spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +48,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,938$ in absolutem Alkohol).

9,514 mg Subst. (1 Stunde bei 105° und 0,01 mm getrocknet) zu 1,0122 cm³;
 $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,45^{\circ} \pm 0,20$

Zur Analyse wurde 1½ Stunden bei 100° und 0,01 mm getrocknet. Die Substanz war beim Wägen nicht hygroskopisch.

3,666 mg Subst. gaben 9,63 mg CO₂ und 3,25 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350,48)	Ber. C 71,96	H 9,78%
	Gef. „ 71,63	„ 9,92%

Die Substanz ist leicht löslich in Alkohol und Aceton, schwer in Äther und Wasser. Die Methanollösung schwärzt sich nach Zusatz von alkalischer Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur nach einer Minute sehr stark. In möglichst wenig Methanol gelöst, wird auf Zusatz einer heiss gesättigten Lösung von Digitonin in 60-proz. Methanol sofort eine Fällung erhalten.

Abbau von Substanz P (IV) zu Androstan-dion (VI).

Wegen Materialmangel wurden zu diesem Versuch die unreinen Anteile von Substanz P aus den Mutterlaugen verwendet, die wahrscheinlich in 3-Stellung noch partiell acetyliert waren. 22 mg dieses Produktes vom Smp. 190—210° wurden in 0,5 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 20 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ Eisessig versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die im ersten Augenblick entstandene braune Fällung war dann in Lösung gegangen, und die Mischung hatte sich grünlich gefärbt. Es wurde im Vakuum bei 20° eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen. Die Sodauszüge gaben beim Ansäuern nur eine Spur saurer Bestandteile. Die neutrale Ätherlösung wurde eingedampft und gab 14 mg Neutralprodukt, das roh bei 110—125° schmolz und alkalische Silberdiamminlösung fast nicht mehr reduzierte. Es wurde zur völligen Verseifung in 1 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 10 mg Kaliumcarbonat in 0,1 cm³ Wasser versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung gab 11 mg neutralen Ätherrückstand, der in wenig Eisessig gelöst mit 4 mg Chromtrioxyd 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurde.

Die wie oben durchgeführte Aufarbeitung gab ca. 9 mg farbloses Neutralprodukt. Zur Reinigung wurde es zunächst in einer Mischung gleicher Teile Benzol und Pentan gelöst, über eine Säule von 50 mg Aluminiumoxyd filtriert und mit demselben Lösungsmittel nachgewaschen, bis beim Eindampfen des Filtrats kein Rückstand mehr verblieb. Die vereinigten Eluate wurden im Hochvakuum sublimiert (0,01 mm und 140° Badtemperatur) und nochmals wie oben chromato-

graphisch gereinigt. Dann wurde zweimal aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es resultierten farblose Blättchen, die bei 133—134° korr. schmolzen. Die Mischprobe mit authentischem Androstan-dion (VI) von demselben Schmelzpunkt gab keine Depression.

Abbau von Substanz P (IV) zu 3(β),17(β)-Dioxy-allo-ätio-cholansäure (V).

16 mg fast reine Substanz P vom Smp. 224—230° korr. wurden in 2 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 30 mg Perjodsäure in 2 cm³ Wasser, die 10 mg Schwefelsäure enthielt, versetzt. Es entstand eine kleine Trübung, die durch Zusatz von Methanol in Lösung gebracht wurde. Zur möglichsten Vermeidung einer Veresterung der entstandenen Säure wurde dann noch so viel Wasser zugesetzt, dass die Mischung gleich viel Wasser und Methanol enthielt. Die klare Lösung wurde 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wonach sich dann etwas Nadeln abgeschieden hatten. Sie wurde im Vakuum von Methanol völlig befreit und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen und dann mehrmals mit kleinen Portionen verdünnter Sodalösung ausgezogen. Im Äther verblieben 3 mg neutrale Anteile. Aus den Sodalösungen wurden 13 mg einer krystallisierten Säure erhalten, die roh bei 274—276° korr. schmolz. Sie wurde zur Sicherheit nochmals in 2 cm³ Methanol gelöst und mit 0,3 cm³ einer 5-proz. wässrigen Pottaschelösung eine Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Einengen im Vakuum wurde mit Salzsäure angesäuert und mit viel frisch destilliertem Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung wurde getrocknet und auf ein kleines Volumen eingengt. Es krystallisierten 10 mg feiner farbloser Nadeln vom Smp. 277—278° korr. unter Zersetzung.

22 mg derselben Säure wurden durch analoge Oxydation von 64 mg unreiner Substanz P (aus Mutterlaugen) erhalten.

Methylester. 13 mg obiger Säure wurden mit absolutem Äther angeschlemmt und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Bei leichtem Schwenken waren die Krystalle nach 4 Minuten gelöst. Dann wurde sofort mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde im Molekularkolben bei 0,002 mm und 160° Badtemperatur sublimiert und das Sublimat aus Äther durch Einengen umkrystallisiert. Es wurden 12 mg Blättchen erhalten, die bei 239—245° korr. schmolzen. Sie zeigten eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{21} = +10,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,45$ in Methanol).

11,36 mg Subst. zu 2,530 cm³; $l = 2$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,095^\circ \pm 0,02^\circ$.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert. Das Sublimat schmolz bei 238 bis 244° korr.

2,639 mg Subst. gaben 6,99 mg CO₂ und 2,33 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350,48)	Ber. C 71,96	H 9,78%
	Gef. „ 72,23	„ 9,88%

Aus den Analysenzahlen lässt sich nicht entscheiden, ob nicht eine partielle Methylierung der Oxy-gruppe in 17-Stellung eingetreten ist¹⁾, da sich für die Formel $C_{22}H_{36}O_5$ die folgenden Werte berechnen: C 72,49 H 9,97 %.

Wird eine Spur des Esters in möglichst wenig Methanol gelöst und mit einem Tropfen der heissgesättigten Lösung von Digitonin in 60-proz. Methanol versetzt, so entsteht sofort eine in der Hitze unlösliche Fällung. Auch mit 1-proz. Digitoninlösung in 90-proz. Äthylalkohol entsteht langsam in der Kälte, rascher beim Erhitzen eine deutliche Fällung.

Substanz K und in 20-Stellung isomeres Allo-pregnan-tetrol-(3(β),17(β),20,21) (VII und VIII) aus Substanz P.

In den Glaseinsatz eines Hochdruck-Rotier-Autoklaven wurden 40 mg reinstes P-Acetat (III) vom Smp. 210—211°, 10 cm³ reines Methanol und das aus 200 mg gepulverter Nickel-Aluminium-Legierung bereitete und zuletzt gut mit Methanol gewaschene Raney-Nickel eingefüllt. Nach Verschiessen und Verdrängen der Luft wurde Wasserstoff bis auf 165 Atm. aufgedrückt und hierauf 12 Stunden unter langsamer Rotation auf 95° erwärmt. Der Druck betrug dabei 200 Atm. Nach Abkühlen und Öffnen wurde über eine Spur Kohle filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Die klare Lösung reduzierte alkalische Silberdiamminlösung nicht mehr. Beim Eindampfen hinterblieb ein krystallisierter Rückstand, der 39 mg wog und bei ca. 60—140° schmolz.

Dieses Material wurde in 1,5 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,9 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 16 Stunden stehen gelassen. Es wurde hierauf im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst und mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Durch fraktionierte Krystallisation aus Äther-Pentan konnten 2 verschiedene Acetate isoliert werden. Zuerst schieden sich Nadeln ab, die bei etwa 179° korr. schmolzen. Es folgten Gemische und zum Schluss rechteckige langgestreckte Platten, die meist zu Rosetten vereinigt waren und die denselben Smp. von 179° korr. zeigten. Die Trennung gelang durch mehrmaliges möglichst rasches Umkrystallisieren weitgehend. Trotz dem fast gleichen Schmelzpunkt erlaubte die Krystallform ein sicheres Erkennen, ferner gaben die 2 Acetate bei der Mischprobe eine geringe, aber deutliche Depression, die eine sichere Unterscheidung ermöglichte.

Alle möglichst reinen Nadeln wurden vereinigt und nochmals aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es wurden 10 mg Nadeln erhalten, die bei 180—181° korr. schmolzen. Sie zeigten in Aceton keine merkbare Drehung. Gefunden wurde $[\alpha]_D^{22} = -1,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,792$ in Aceton).

8,034 mg Subst. zu 1,0122 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = -0,01^\circ \pm 0,02^\circ$.

¹⁾ Vgl. O. Th. Schmidt, H. Zeiser, B. 67, 2122 (1934).

Es handelt sich hierbei um das Acetat des neuen Allo-pregnan-tetrols.

Die vereinigten rechteckigen Blättchen wurden aus Methanol umkrystallisiert und gaben 11 mg sehr schöne farblose Krystalle derselben Form (langgestreckte Rechtecke), die bei 179—180° korr. schmolzen. Sie zeigten eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = + 57,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,012$ in Aceton).

10,266 mg Subst. zu 1,0122 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = + 0,58^\circ \pm 0,03^\circ$.

Es handelt sich hier um das Triacetat von Substanz K¹).

Die Mischprobe der beiden Acetate (Nadeln und Blättchen) schmolz bei 168—176° korr., ebenso die Mischprobe der Nadeln mit dem Triacetat von K. Dagegen gab die Mischprobe der rechteckigen Blättchen mit dem gleich hoch schmelzenden Triacetat von Substanz K keine Depression. Auch in der Krystallform und in der Drehung stimmten die letzten gut überein, sodass an der Identität nicht zu zweifeln ist.

Freies Allo-pregnan-tetrol-(3(β),17(β),20,21), in 20-Stellung stereoisomer mit Substanz K.

10 mg des nadelförmig krystallisierenden Acetats vom Smp. 180—181° korr. wurden mit der Lösung von 70 mg Kaliumhydroxyd in 4 cm³ Methanol 20 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von 1,5 cm³ Wasser wurde das freie Alkali mit Kohlendioxyd neutralisiert und hierauf das Methanol im Vakuum völlig entfernt, wobei krystalline Abscheidung eintrat. Es wurde mit frisch destilliertem Äther ausgeschüttelt, wozu 100 cm³ nötig waren. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt schmolz unscharf bei 200—268° und wurde aus wenig absolutem Alkohol umkrystallisiert und mit Äther gewaschen. Es resultierten schiffchenförmige Krystalle (\subset) vom Smp. 264—284°, die im Molekularkolben bei 0,005 mm Druck und 190° Badtemperatur sublimiert und wie oben umkrystallisiert wurden. Auf diese Weise wurden 2,5 mg zugespitzte Nadeln vom Smp. 283—286° korr. erhalten. Dabei muss ziemlich rasch erhitzt werden, da die Substanz bei 270° zu sublimieren beginnt.

Zur Analyse wurde 1½ Stunden im Hochvakuum bei 0,01 mm Druck und 105° getrocknet.

1,630 mg Subst. gaben 4,27 mg CO₂ und 1,47 mg H₂O

C₂₁H₃₆O₄ (252,50) Ber. C 71,55 H 10,30%

Gef. „ 71,44 „ 10,09%

Die Mikroanalysen wurden im mikrochem. Laboratorium des Instituts (Leitung Priv.-Doz. Dr. M. Furter) ausgeführt.

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

¹) M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 546 (1938).