

quence, il a été reconnu que l'addition à l'air d'oxygène, de façon à réaliser un mélange équimoléculaire azote-oxygène, ne provoque pas — surtout lorsque le mélange est en dépression — des améliorations de rendement aussi fortes que lorsque l'arc est alimenté par des courants à basse fréquence.

En concordance avec les résultats trouvés précédemment, on a obtenu les rendements les plus élevés en opérant aux puissances les plus faibles compatibles avec un arc stable. Ces conditions sont réalisées en associant la haute fréquence du courant alimentant l'arc à la mise en dépression du mélange gazeux. Les valeurs enregistrées alors pour le rendement atteignent l'ordre de 200 gr. HNO₃ au kwh.

Laboratoire de Chimie technique, théorique
et d'Electrochimie de l'Université de Genève.
Juillet 1939.

129. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe

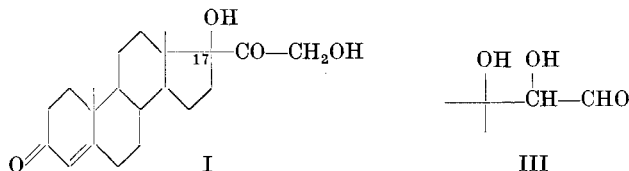
(26. Mitteilung¹⁾)

Beweis für die Zugehörigkeit der Substanz S zur 17(β)-Reihe

von T. Reichstein, C. Meystre und J. v. Euw.

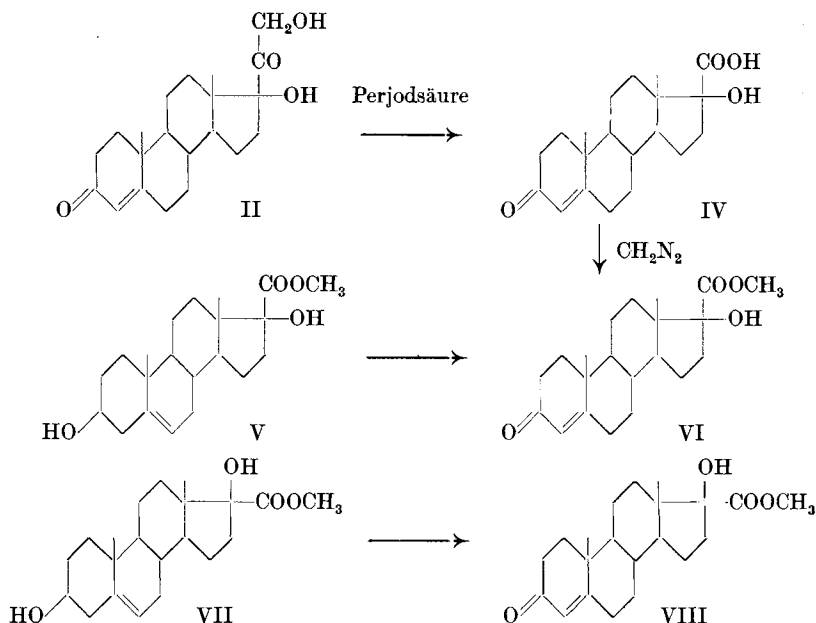
(21. VIII. 39.)

In einer früheren Mitteilung²⁾ wurde gezeigt, dass die aus Rinder-Nebennieren isolierte Substanz S höchst wahrscheinlich eine der Konstitutionsformeln (I) oder (II) besitzt, wobei also die Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17 noch nicht bestimmt angegeben werden konnte. Aus Analogiegründen wurde jedoch vermutet, dass Substanz S der 17(β)-Reihe angehört, dass somit Formel (II) richtig ist. Auch eine Dioxy-aldehyd-Gruppierung in der Seitenkette entsprechend Formel (III) war nach dem seinerzeit durchgeführten Abbau zu Androsten-(4)-dion-(3,17) als möglich anzusehen, jedoch aus anderen Gründen wenig wahrscheinlich. Im Folgenden wird gezeigt, dass Formel (II) tatsächlich richtig ist.



¹⁾ 25. Mitteilung vgl. Helv. **22**, 728 (1939).

²⁾ T. Reichstein, Helv. **21**, 1490 (1938).



Durch Einwirkung von Perjodsäure wird Substanz S zu einer Säure abgebaut, der, wie weiter unten gezeigt wird, die Formel (IV) zukommt. Aus dieser Tatsache allein, dass eine Säure $C_{20}H_{28}O_4$ entsteht, folgt, dass nur die Formeln (I) oder (II) mit einer Dioxy-aceton-Gruppierung richtig sein können. Ein Stoff der Formel (III) mit einer Dioxy-aldehyd-Gruppierung in der Seitenkette müsste hierbei zu Androsten-(4)-dion-(3,17) abgebaut werden. Es blieb jetzt noch die Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17 zu bestimmen, und dies geschah durch Vergleich des Methylesters (VI) der beim Abbau erhaltenen Säure (IV) mit teilsynthetisch vorbereitetem Material. Die beiden Ester (VI) und (VIII) wurden durch Oxydation aus (V) und (VII) gewonnen. Der so erhaltene Ester (VI) war identisch mit dem aus Substanz S bereiteten. Der Ester (VIII) dagegen war deutlich davon verschieden. Die Reinigung von (VIII) stieß auf Schwierigkeiten, doch waren seine Eigenschaften von (VI) genügend abweichend, um die Unterscheidung sicherzustellen.

Wird der 3(β),17(α)-Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (VII)¹⁾ nach Absättigung der Doppelbindung mit Brom einer vorsichtigen Oxydation mit Chromsäure unterworfen und das Oxydationsprodukt in der üblichen Weise mit Zink entbromt, so entsteht, neben anderen Produkten, der gesuchte 3-Keto-17(α)-oxy-ätio-cholen-(4)-säure-methylester (VIII). Die Reinigung des auf diesem Wege gewonnenen Esters bereitete besondere Schwierigkeiten.

¹⁾ L. Ruzicka, K. Hofmann, *Helv.* **21**, 88 (1938); K. Miescher, A. Wettstein, *Helv.* **21**, 1317 (1938); vgl. dieselben, *Helv.* **22**, 112 (1939).

Der Schmelzpunkt war auch nach Chromatographierung und mehrmaligem Umkrystallisieren nicht scharf. Das U.V.-Absorptionsspektrum¹⁾ zeigte zwar bei 244 m μ ein Maximum mit $\log \epsilon = \text{ca. } 4,2$, wie es von einem α, β -ungesättigten Keton verlangt werden muss (vgl. Kurve A). Es ist aber ersichtlich, dass die Kurve eine Ausbuchtung aufweist, welche dem reinen Stoff sicherlich nicht zukommt.

Besser wird der Ester (VIII) erhalten, wenn die Oxydation von (VII) nach dem Verfahren von *Oppenauer*²⁾ durch Kochen mit Aceton und Aluminium-tert.-butylat in Benzollösung vorgenommen wird. Aus dem Oxydationsgemisch wurde (VIII) mit Hilfe von *Girard's* Reagens T³⁾ isoliert. Der so erhaltene Ester liess sich besser reinigen, und das U.V.-Absorptionsspektrum zeigte eine glatte Kurve, jedoch war dafür das Maximum etwas zu niedrig (vgl. Kurve B). Es ist daher möglich, dass der so gewonnene Ester etwas unverändertes Ausgangsmaterial (VII) enthalten hat. Die Trennung von (VII) und (VIII) ist deswegen schwierig, weil die beiden Stoffe isomorph zu sein scheinen, denn sie schmelzen gleich und geben bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung. Das Spektrum dürfte daher zur Beurteilung der Reinheit in jedem Falle die besten Anhaltspunkte geben. Trotz der erwähnten Schwierigkeit konnte mit Sicherheit festgestellt werden, dass der Ester (VIII) verschieden vom Methylester der aus Substanz S gewonnenen Säure (IV) war. Somit kann Substanz S nicht Formel (I) besitzen.

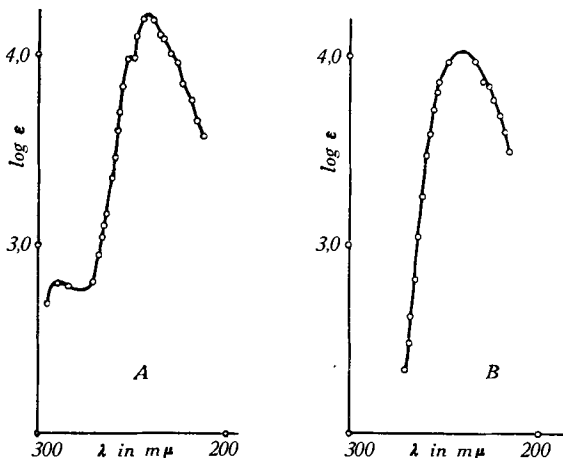


Fig. 1.

A 1,16 mg in 30 cm³ Alkohol $c = 0,000112$ molar. B 1,65 mg in 30 cm³ Alkohol $c = 0,000159$ molar.

¹⁾ Wir verdanken die U.V.-Absorptionsspektren wiederum der Freundlichkeit von Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mohler, Zürich. Bezüglich der Aufnahmetechnik und der Auswertung der Messpunkte vgl. Anm. 3, Helv. **20**, 957 (1937).

²⁾ R. Oppenauer, R. **56**, 127 (1937).

³⁾ A. Girard, G. Sandulesco, Helv. **19**, 1095 (1936).

Der isomere Ester (VI) der 17(β)-Reihe wurde nun in analoger Weise aus dem kürzlich zu diesem Zweck bereiteten Ester (V)¹⁾ durch Oxydation nach *Oppenauer* gewonnen. Obwohl (V) nur in sehr kleinen Mengen vorlag, gelang die Isolierung von (VI) relativ leicht, da (V) und (VI) nicht isomorph sind und sich leicht unterscheiden lassen. Dieser Ester (VI) erwies sich nun nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit dem aus Substanz S gewonnenen Ester. Die letztere gehört somit der 17(β)-Reihe an und besitzt Formel (II).

Wir danken der *Gesellschaft f. Chem. Industrie*, Basel, der *Haco-Gesellschaft*, Gmülingen und der *N. V. Organon*, Oss, für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

Abbau von Substanz S mit Perjodsäure.

Substanz S wurde früher²⁾ aus dem Mono-acetat durch Verseifung mit Kaliumbicarbonat in Methanol gewonnen. Die reinen Krystalle hatten zur Verbrennung und für weitere Versuche gedient. Für den folgenden Abbau mussten daher alle noch vorhandenen, nur teilweise krystallisierten Mutterlaugen dienen, was aber zulässig ist, da sie ja auch aus ganz reinem Acetat stammten.

18 mg solcher Mutterlaugen wurden in 3 cm³ reinstem Methanol gelöst und, mit der Lösung von 35 mg Perjodsäure in 3 cm³ Wasser versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen. Hierauf wurden die sauren Anteile mit Sodalösung ausgezogen, mit Salzsäure in Freiheit gesetzt und mit Äther gesammelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es wurden 10 mg roher Säure erhalten und daraus durch Umkrystallisieren aus wenig Äther 2 mg Krystalle, die bei 232—240° korr. unter Zersetzung schmolzen.

Die krystallisierte Säure wurde mit frisch bereiteter, ätherischer Diazomethanlösung etwa 5 Minuten lang bei 0° methyliert, wobei völlige Lösung eintrat. Dann wurde neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der krystallisierte Rückstand wurde in wenig Benzol gelöst, mit demselben Volumen Pentan versetzt und über eine Säule von 100 mg Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert. Durch Nachwaschen mit Benzol wurde nur eine Spur Verunreinigungen abgelöst. Mit Benzol-Äther (1:1) sowie mit reinem Äther wurde des Ester eluiert. Diese Eluate wurden eingedampft und der Rückstand aus wenig Äther-Pentan umkrystallisiert. Es wurden farblose Nadelchen erhalten, die bei 210—215° korr. schmolzen. Die amorphe Mutterlauge der krystallisierten Säure

¹⁾ *T. Reichstein, C. Meystre*, Helv. **22**, 728 (1939).

²⁾ *T. Reichstein*, Helv. **21**, 1490 (1938).

wurde analog methyliert und gab nach der chromatographischen Trennung nochmals eine kleine Menge desselben Esters. Beide Anteile wurden dann zusammen nochmals aus wenig Methanol, unter Zusatz einer Spur Wasser umkrystallisiert und gaben farblose Nadelchen vom Smp. 216—218° korr. Die Ausbeute betrug 1,5 mg. Die Mischprobe mit dem 3-Keto-17(β)-oxy-ätio-cholen-(4)-säure-methylester (siehe weiter unten) gab keine Depression. Zur Analyse wurde das Produkt eine Stunde im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

1,274 mg Subst. gaben 3,38 mg CO₂ und 1,055 mg H₂O

C₂₁H₃₀O₄ (346,45) Ber. C 72,79 H 8,75%

Gef. „ 72,35 „ 9,25%

Die Analyse wurde wegen der geringen vorhandenen Menge unter besonderen Vorsichtsmassregeln ausgeführt. Auch wurde unmittelbar vorher und nachher eine bekannte Substanz verbrannt, wobei richtige Werte gefunden wurden. Trotzdem ist die Fehlergrenze hier natürlich etwas grösser als normal.

3-Keto-17(α)-oxy-ätio-cholen-(4)-säure-methylester (VIII).

a) Mit Chromsäure. 100 mg 3(β), 17(α)-Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (VII)¹⁾ vom Smp. 188—190° korr. wurden in etwas frisch destilliertem Tetrachlorkohlenstoff gelöst und bei 0° mit der Lösung von 20 mm³ Brom in 1 cm³ Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Nach 15 Minuten wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 1 cm³ Eisessig gelöst und, mit der Lösung von 40 mg Chromtrioxyd in 2 cm³ Eisessig versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde mit Wasser verdünnt und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen wurden direkt mit 300 mg Zinkstaub und 300 mg Natriumacetat versetzt und unter ständigem Umschütteln auf dem Wasserbad eingedampft. Der Rückstand wurde noch mit 2 cm³ Eisessig versetzt und 10 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt. Die Hauptmenge der Essigsäure wurde dann im Vakuum entfernt, der Rückstand in Äther aufgenommen, vom Zink abgegossen und letzteres noch mehrmals mit Äther gewaschen. Die Ätherlösung wurde mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Produkt war bromfrei und schmolz nach einmaligem Umkrystallisieren aus Aceton bei 180—187°. Es wurde nochmals in etwas Eisessig aufgenommen und zwei Minuten leicht gekocht. Dann wurde wieder im Vakuum eingedampft, in Äther gelöst, neutral gewaschen und eingedampft. Der Rückstand wurde im Molekularkolben bei 0,005 mm und 140—160° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat wurde in Benzol gelöst, mit demselben Volumen Pentan versetzt

¹⁾ L. Ruzicka, K. Hofmann, Helv. **21**, 88 (1938); K. Miescher, A. Wettstein, Helv. **21**, 1317 (1938); vgl. dieselben, Helv. **22**, 112 (1939).

und über 3 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Es wurde 10mal mit je 3 cm³ absolutem Benzol nachgewaschen. Das erste Filtrat und das erste Benzol-Eluat enthielten nur Verunreinigungen und wurden verworfen. Die sieben folgenden Benzoleluate gaben kristallisierte Rückstände, die nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan alle gegen 180° schmolzen. Diese Krystalle wurden vereinigt und dreimal aus Äther-Pentan, dann aus wenig Aceton-Pentan und schliesslich aus reinem Äther umkrystallisiert. So wurden 5 mg farbloser Krystalle erhalten, die bei 185—187° schmolzen. Sie gaben mit dem Ausgangsmaterial (VII) keine Schmelzpunkts-Erniedrigung, trotzdem nach dem Resultat der U. V.-Absorptionsmessung (vgl. theoretischer Teil, Kurve A) ein neues Produkt vorliegt.

b) Nach Oppenauer. 50 mg 3(β),17(α)-Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (VII) vom Smp. 188—190° korr. wurden zur völligen Entfernung des Hydratwassers in Toluol gelöst und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit 4,5 cm³ absolutem Benzol, 1,5 cm³ Aceton und 200 mg frisch im Hochvakuum destilliertem Aluminium-tert.-butylat 24 Stunden unter Rückfluss gekocht (Schliffkolben und Feuchtigkeitsausschluss). Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Äther und verdünnter Salzsäure zerlegt und die Ätherlösung mit Salzsäure, verdünnter Natronlauge in Gegenwart von Eis und schliesslich mit Wasser ausgewaschen. Die Lauge nahm eine merkbare Menge freier Säure auf. Die getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft.

Der Rückstand wurde mit 100 mg *Girard's* Reagens T¹), 2 cm³ Methanol und 200 mm³ Eisessig zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde auf —10° abgekühlt und mit 15 cm³ Wasser, das 95 % der zur Neutralisation des Eisessigs nötigen Menge Natronlauge enthielt und bis zur beginnenden Eisbildung abgekühlt war, in einem Guss versetzt und bei —5° viermal mit vorgekühltem Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit etwas Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Sie hinterliess 14 mg ketonfreies Material, das zur Hauptsache Ausgangsprodukt darstellte.

Die wässrige Lösung und die Waschwässer wurden tropfenweise mit konz. Salzsäure bis zur eben kongosauren Reaktion, dann noch mit ein Zehntel Volumen derselben Säure versetzt und bei 20° stehen gelassen. Jeweils nach 15 Minuten wurde mit Äther ausgeschüttelt, im ganzen viermal. Die vereinigten Ätherauszüge wurden mit Soda und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es wurden 11,2 mg Ketoester erhalten, der nach einmaligem Waschen mit Äther-Pentan bei 180—185° schmolz, und nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan bei 182—185° korr. Zur Analyse

¹) A. Girard, G. Sandulesco, Helv. **19**, 1095 (1936).

wurde nochmals aus Äther durch Einengen krystallisiert und eine Stunde bei 100° im Hochvakuum getrocknet. Die farblosen Krystalle schmolzen wiederum bei 182—185° korr. und gaben weder mit dem Ausgangsmaterial (VII), noch mit dem oben beschriebenen, mit Chromsäure erhaltenen Ketoester eine Schmelzpunkts-Erniedrigung. Das U. V.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil (Kurve B) wiedergegeben. Obwohl diese Messung keinen Anspruch auf Präzision machen soll, deutet das Resultat doch darauf hin, dass unser Material trotz der Reinigung mit *Girard's* Reagens noch 30—35% Ausgangsprodukt (VII) enthalten könnte, da für das Maximum nur ein $\log \epsilon = 4,0$ gefunden wurde, während α, β -ungesättigte Ketone sonst einen $\log. \epsilon = \text{ca. } 4,2$ ergeben.

3,816 mg Subst. gaben 10,13 mg CO₂ und 3,05 mg H₂O
 C₂₁H₃₀O₄ (346,45) Ber. C 72,97 H 8,73%
 Gef. „ 72,40 „ 8,94%

3-Keto-17(β)-oxy-ätio-cholen-(4)-säure-methylester (VI).

10 mg 3(β),17(β)-Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (V)¹ vom Smp. 232—236° korr. wurden mit 0,8 cm³ Aceton, 2 cm³ Benzol und 100 mg frisch im Hochvakuum sublimiertem Aluminium-tert.-butylat 24 Stunden unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung geschah wie beim 17(α)-Isomeren. Es wurde zunächst wieder eine merkbare Menge Säure und 7,6 mg Neutralprodukt erhalten, das roh bei 207—229° korr. schmolz. Das Neutralprodukt wurde ohne Sublimation mit 100 mg *Girard's* Reagens T, 2 cm³ Methanol und 0,2 cm³ Eisessig 10 Minuten gekocht. Die Aufarbeitung gab als ketonfreies Material etwas unverändertes Ausgangsprodukt. Die rohe Ketofraktion wog 3 mg. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden farblose Nadelchen gewonnen, die bei 216—219° korr. schmolzen. Sie gaben mit dem Ausgangsmaterial eine starke Schmelzpunkts-Erniedrigung, nicht jedoch mit dem genau gleich schmelzenden Ester aus Substanz S.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. O. Schwarzkopf, Paris, ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹) T. Reichstein, C. Meystre, Helv. 22, 728 (1939).