

132. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe

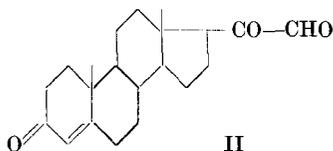
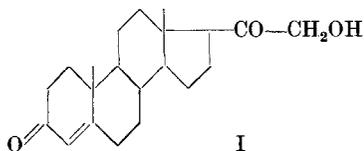
(27. Mitteilung)¹⁾

Δ^4 -3-Keto-androstenyl-glyoxal-17 und verwandte Stoffe

von H. Reich und T. Reichstein.

(24. VIII. 39.)

Von den zahlreichen bisher aus Nebennieren isolierten Pregnan-Abkömmlingen haben sich fünf²⁾ im biologischen Versuch als „cortin-wirksam“ erwiesen. Ein sechster³⁾ dürfte ebenfalls wirksam sein. Die stärkste Aktivität zeigten bei den meisten Testmethoden⁴⁾ das Desoxy-corticosteron (I) und seine Ester.



Dagegen wurde sowohl von *Wintersteiner*⁵⁾ als auch von *Kendall*⁶⁾ mehrmals darauf hingewiesen, dass es gelingt, aus Nebennieren-extrakten nach Entfernung aller krystallisierbaren Anteile amorphe Gemische zu gewinnen, die stärker wirksam sind⁷⁾. Es wurde daher verschiedentlich vermutet, dass solche amorphen Konzentrate zu- mindest noch eine unbekannte Substanz enthalten, die stärker wirk- sam ist als alle bisher bekannten. Einzelne Autoren gehen so weit, diesen hypothetischen Stoff als das eigentliche Rindenhormon zu be- zeichnen. Unseres Erachtens ist es durchaus möglich, dass es wirklich noch einen solchen Stoff gibt, der stärker wirksam ist als (I). Dagegen

¹⁾ 26. Mitteilung, Helv. **22**, 1107 (1939).

²⁾ Es sind dies: Corticosteron, Dehydro-corticosteron, 17-Oxy-corticosteron, 17-Oxy- dehydro-corticosteron und Desoxy-corticosteron.

³⁾ Substanz S, vgl. 21. Mitteilung, Helv. **21**, 1490 (1938).

⁴⁾ Das Verhältnis der Aktivität der verschiedenen Substanzen ist sehr stark von der Testmethodik, der Applikationsart und dem verwendeten Lösungsmittel abhängig. Dies rührt sicherlich weitgehend von der verschiedenen Resorptionsgeschwindigkeit her, denn ein Überschuss an Hormon wird vom Organismus zerstört oder ausgeschieden, so dass nur der Teil zur Wirkung und Messung kommt, der einerseits wirklich benötigt und andererseits momentan verfügbar ist, also ins Blut gelangt.

⁵⁾ O. Wintersteiner, J. J. Pfiffner, J. Biol. Chem. **116**, 291 (1936).

⁶⁾ W. M. Hoehn, H. L. Mason, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **124**, 459 (1938) und frühere.

⁷⁾ Nach der letzten Publikation von E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **128**, (Nr. 3) 11 (1939) (Proc. Amer. Soc. of Biol. Chem.), ist allerdings sein stärkst wirksames, amorphes Konzentrat im Hundetest nur noch etwa zweimal so stark wirksam wie Desoxy-corti- costeron-acetat.

ist dies nicht erwiesen, und die amorphen Konzentrate könnten auch einen als Aktivator wirkenden Stoff enthalten.

Wir vermuten, dass ein solcher Stoff, wenn er wirklich existiert, ebenfalls ein naher Verwandter der oben genannten, bisher als aktiv befundenen fünf Substanzen sein wird. Da eine Isolierung bisher nicht gelang, so sollte versucht werden, auf synthetischem Wege weiterzukommen. Insbesondere sollte geprüft werden, ob durch geeignete Abwandlung der Seitenkette eine verstärkte Wirksamkeit hervorgerufen werden kann. Als erstes Ziel stellten wir uns die Bereitung des Pregnen-(4)-dion-(3,20)-als-(21) (Δ^4 -3-Keto-androstenyglyoxal-(17)) (II), dessen Bereitung hier beschrieben wird. Der Stoff ist sehr schwer zu reinigen, so dass es verständlich wäre, wenn er oder ein analoges Glyoxal-Derivat bisher nicht isoliert worden ist, auch wenn es in relativ erheblicher Menge im Rinden-Extrakt enthalten wäre.

Glyoxal-Derivate des Androstens sind in reinem Zustand bisher nicht bereitet worden. *Hoehn* und *Mason*¹⁾ beschreiben die Herstellung des 3,12-Desoxy-pregnanon-(20)-als-(21) als Zwischenprodukt einer längeren Reaktionsfolge. Es wurde jedoch nicht isoliert, und die angewandte Methodik ist für präparative Zwecke sehr wenig geeignet. Dasselbe gilt für die meisten Verfahren, die üblicherweise für die Bereitung von Glyoxalderivaten verwendet werden. Nach verschiedenen vergeblichen Versuchen lieferte schliesslich die schöne Methode von *Kröhnke* und *Börner*²⁾ das gewünschte Resultat.

21-Chlor-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20) (III)³⁾ oder das entsprechende 21-Bromderivat liefert beim Erwärmen mit überschüssigem Pyridin leicht und in guter Ausbeute das Pyridiniumsalz (IV) (bzw. das entsprechende Bromid). Dieses reagiert mit Nitroso-dimethyl-anilin in Gegenwart von ein Äquivalent Alkali unter Bildung des Nitrons (V), das durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure in das Glyoxalderivat (VI) übergeführt wird. Der Stoff ist schwer zu reinigen und wurde in zwei Formen erhalten, von denen die eine bei ca. 135°, die andere bei ca. 170° korr. schmilzt. Möglicherweise handelt es sich um verschiedene Hydrate oder Polymere. Beide Formen reduzieren alkalische Silberdiammin-Lösung und liefern mit methylalkoholischer Salzsäure nach eintägigem Stehen bei Zimmertemperatur oder rascher beim Kochen dasselbe Acetal (VII), das zur Charakterisierung sehr geeignet ist. Auch ein Dioxim, ein Chinoxalin und ein Dianil wurden bereitet. Durch Oxydation von (VII) nach der Methode von *Oppenauer*⁴⁾ mit Aceton und Aluminium-tert.butylat liess sich das

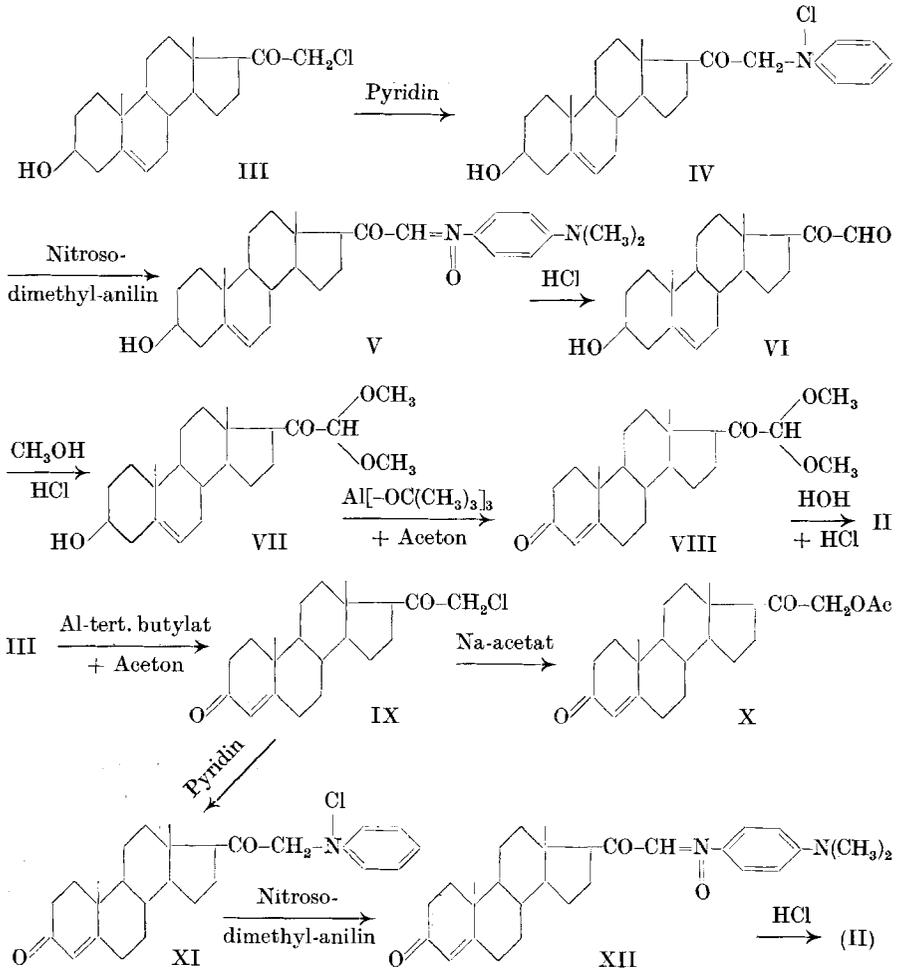
¹⁾ *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc.* **60**, 1493 (1938).

²⁾ *F. Kröhnke, E. Börner, B.* **69**, 2006 (1936); vgl. ferner *F. Kröhnke, B.* **71**, 2583 (1938) und *F. Kröhnke, H. Schmeiss, B.* **72**, 440 (1939).

³⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv.* **20**, 1165 (1937).

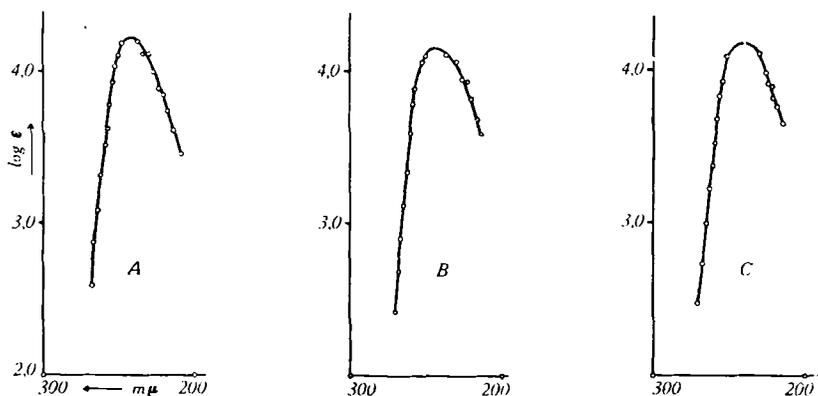
⁴⁾ *R.* **56**, 127 (1937).

Di-keto-acetal (VIII) bereiten, das in reinem Zustand ebenfalls sehr schön krystallisiert und bei 85—86° korr. schmilzt. Es wurde durch das U.V.-Absorptions-Spektrum charakterisiert, das bei Verwendung der alkoholischen Lösung ein Maximum bei 244 m μ (log ϵ = 4,22) aufweist (vgl. Kurve A, Figur 1)¹⁾, das für α,β -ungesättigte Ketone charakteristisch ist. Durch vorsichtige saure Hydrolyse lassen sich endlich die Acetalreste abspalten, und man gewinnt den gesuchten, freien Di-keto-aldehyd (II). Allerdings verläuft diese letzte Stufe nicht sehr glatt, und es gelang bisher nicht, den auf diesem Wege gewonnenen Aldehyd zu krystallisieren.



¹⁾ Diese und die folgenden Messungen verdanken wir wiederum Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mohler, Zürich. Die Auswertung der Kurven erfolgte wie früher, Helv. 20, 957 (1937), Anm. 3 vermerkt.

Es wurde daher versucht, den Reaktionsweg noch zu vereinfachen und zu verbessern. Die grösste Vereinfachung wäre die, wenn man die letzte Oxydation umgehen, also gleich vom 21-Chlor-progesteron (IX) ausgehen könnte. Dieser Stoff war bisher nicht bekannt, und es ist seinerzeit erwähnt worden¹⁾, dass es nicht gelingt, ihn, ausgehend von (III), auf dem üblichen Wege, nach vorübergehendem Schutz der Doppelbindung mit Brom, durch Oxydation mit Chromsäure und nachträgliche Entbromung zu gewinnen, da bei der letzten Stufe auch das Halogen in 21-Stellung mit entfernt wird.



Pregnen-(4)-dion-(3.20)-al-
(21)-dimethyl-acetal (VIII)
1,66 mg in 30 cm³ Alkohol.

21-Chlor-progesteron (IX)
2,25 mg in 30 cm³ Alkohol.

21-Brom-progesteron
2,08 mg in 30 cm³ Alkohol.

Fig. 1.

Es wurde nun gefunden, dass die Bereitung von (IX) aus (III) nach *Oppenauer's Methode*¹⁾ auffallend gut gelingt. Die Isolierung des Chlor-progesterons (IX) wird hier noch durch den Umstand wesentlich erleichtert, dass es höher schmilzt als (III), während Progesteron-Derivate sonst meist tiefer schmelzen und leichter löslich sind als die entsprechenden Pregnenolon-Derivate. Auch 21-Brom-progesteron konnte ganz analog gewonnen werden. Das Chlor-progesteron (IX) liess sich auch aus (I) mit Phosphorpentachlorid in Gegenwart von Calciumcarbonat²⁾ in geringer Ausbeute gewinnen. Es wurde durch sein U.V.-Absorptions-Spektrum charakterisiert (vgl. Kurve B), das wiederum die für α, β -ungesättigte Ketone charakteristische Bande aufweist, ferner durch die Umsetzung mit Natriumacetat und Eisessig, die Desoxy-corticosteron-acetat (X) lieferte. Aus den so zugänglichen 21-Halogen-progesteronen konnte dann (II) in glatter Reaktionsfolge erhalten werden. Durch Erwärmen mit Pyridin wurde

¹⁾ M. Steiger, T. Reichstein, *Helv.* **20**, 1165 (1937).

²⁾ Zur Methodik vergleiche: U. Westphal, Y. Wang, H. Hellmann, *B.* **72**, 1233 (1939).

zunächst das Pyridiniumsalz (XI) (bzw. das entsprechende Bromid) bereitet und aus diesem mit Nitroso-dimethyl-anilin das Nitron (XII), das schwer krystallisierbar ist. Die Spaltung des Nitrons durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure lieferte dann den gesuchten Di-keto-aldehyd (II) in guter Ausbeute. Er konnte, wenn auch nur mit Mühe, in krystallisiertem Zustand erhalten werden. Die Analyse der Krystalle ergab Werte, die ungefähr mit den für das Monohydrat berechneten übereinstimmen. Der Stoff wurde weiter durch Überführung in das schon oben erwähnte Dimethyl-acetal (VIII) charakterisiert.

Die vorläufige biologische Prüfung des amorphen Rohproduktes im *Everse-de-Fremery-Test*¹⁾ ergab mit 1 mg Substanz pro Tag und Ratte ein negatives, mit 2,5 mg dagegen ein stark positives Resultat. Demnach ist der Stoff schwächer wirksam als Corticosteron. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass zur Zeit der Prüfung die Tiere einen relativ grossen Hormonbedarf zeigten. Für die Prüfung wurde die Substanz in wenig Benzol gelöst, mit Arachisöl vermischt und das Benzol hierauf abdestilliert. Die tägliche Menge wurde in zwei Einzeldosen unterteilt verabreicht. Die Ölmenge wurde so gewählt, dass täglich 1 cm³ Öl injiziert wurde.

Wir danken der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel, der *Haco-Gesellschaft*, Gümligen und der *N. V. Organon*, Oss für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner Herrn Prof. *H. Rupe* für die Erlaubnis zur Benützung seines Polarimeters.

Experimenteller Teil.

21-Chlor- und 21-Brom-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20).

Das bereits früher von *Steiger* und *Reichstein*²⁾ beschriebene 21-Chlor-pregnenolon wurde jetzt wie folgt bereitet:

9 g 21-Diazo-pregnenolon²⁾ wurden in 100 cm³ abs. Äther aufgeschlemmt und portionsweise mit der Lösung von 15 g trockenem Salzsäuregas in 200 cm³ abs. Äther versetzt, wobei unter leichter Selbsterwärmung lebhaftere Stickstoffentwicklung eintrat. Nachdem die sichtbare Reaktion beendet war, wurde noch 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Scheidetrichter mit Wasser, verdünnter Sodalösung und wiederum mit Wasser gewaschen. Es scheiden sich dabei geringe Mengen von Verunreinigungen als harzige Flocken ab. Die klare Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingedampft, wobei die Hauptmenge des Chlorketons direkt auskrystallisierte. Es wurde abgenutscht und mit Äther gewaschen und schmolz bei 165—167° korr. Durch Einengen der Mutterlaugen liess sich noch ein weiterer Teil in reiner Form gewinnen. Insgesamt wurden 7 g reines Chlorketon erhalten. Der Rest lässt sich aus den Mutterlaugen noch durch chromatographische Trennung leicht gewinnen. Aus der Aluminiumoxyd-Säule wird das Chlor-pregnenolon mit abs. Benzol eluiert.

¹⁾ Im Laboratorium der *N. V. Organon*, Oss ausgeführt.

²⁾ *M. Steiger, T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 1165 (1937).

Zur Gewinnung des Brom-pregnenolons wurden 0,9 g 21-Diazopregnenolon in 10 cm³ abs. Äther aufgeschwemmt und mit frisch bereiteter, trockener ätherischer Bromwasserstoff-Lösung versetzt, die ca. 2 g HBr enthielt. Die Krystalle gingen hierbei unter Aufschäumen sofort in Lösung. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurde neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus wenig Aceton unter Zusatz von Äther umkrystallisiert. Es wurden 600 mg reines 21-Brom-pregnenolon vom Smp. 159⁰ bis 159,5⁰ korr. erhalten.

21-Pyridinium-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20)-chlorid (IV).

2 g 21-Chlor-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20) (III) wurden in 14 cm³ abs. Pyridin gelöst und eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Bereits nach kurzer Zeit setzte die Abscheidung von Krystallen ein. Nach der angegebenen Zeit wurde abgekühlt, mit abs. Benzol verdünnt und nach ½-stündigem Stehen abgenutscht und mit Benzol gewaschen. Für die weitere Umsetzung ist das Produkt rein genug. Die Ausbeute beträgt ca. 2 g. Aus den Mutterlaugen lässt sich durch Einengen nur noch eine kleine Menge gewinnen. Zur Analyse wurde das Salz aus Alkohol-Äther, dann aus Alkohol-Wasser umkrystallisiert. Es schmolz bei 289—290⁰ korr. unter Zersetzung und wurde eine Stunde bei 0,01 mm und 115⁰ getrocknet.

5,620 mg Subst. gaben 0,159 cm³ N₂ (20⁰, 761 mm)

C₂₆H₃₆O₂NCl (430,02) Ber. N 3,26 Gef. N 3,30%

Das Salz ist fast unlöslich in Äther und Benzol, schwer löslich in Wasser. Leicht löst es sich in heissem Alkohol.

21-Pyridinium-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20)-bromid.

Das in gleicher Weise aus 21-Brom-pregnenolon bereitete Bromid schmolz bei ca. 300⁰ korr. unter Zersetzung.

[3-Oxy-ätio-cholen-(5)-oyl]-N-[p-dimethylamido-phenyl]-nitron (V).

429,5 mg 21-Pyridinium-pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20)-chlorid (IV) (0,001 Mol) oder die entsprechende Menge Bromid wurden in 13,4 cm³ Alkohol gelöst. Dann wurden 150 mg p-Nitroso-dimethyl-anilin zugeben und die Mischung sofort in einem Eis-Kochsalz-Gemisch gekühlt. Unter Umschwenken wurde nun 1 cm³ n. Natronlauge zugefügt, wobei sich die Lösung sofort intensiv rot färbte. Nach Zusatz von etwas Wasser und Anreiben erfolgte Krystallisation, die durch längeres Stehen bei 0⁰ und durch Zusatz von mehr Wasser vervollständigt wurde. Der rötlichgelbe Niederschlag wurde abgesaugt und gut mit Wasser gewaschen. Zur Darstellung von Ketoaldehyd erübrigt sich das Trocknen. Das Nitron ist schwer zu reinigen. Es wurde zur Analyse zweimal aus Alkohol-Wasser umkrystallisiert und

stellte feine orangegelbe Nadeln vom Smp. 133—134° dar. Nach einstündigem Trocknen bei 0,006 mm und 85° enthielt es noch fast 1 Mol Krystallwasser.

3,105 mg Subst. gaben	8,30 mg CO ₂ und	2,285 mg H ₂ O
4,212 mg Subst. gaben	0,237 cm ³ N ₂ (21°, 747 mm)	
C ₂₉ H ₄₀ O ₃ N ₂ ·H ₂ O (482,65)	Ber. C 72,16	H 8,77 N 5,81%
	Gef. „ 72,90	„ 8,23 „ 6,42%

Pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20)-al-(21) (VI).

Das Nitron aus 430 mg Pyridiniumchlorid (IV) wurde noch feucht in Äther aufgeschlemmt und im Scheidetrichter mehrmals mit 2-n. Salzsäure ausgeschüttelt, bis die wässrige Schicht farblos blieb. Dabei fiel etwas unlösliches, harziges Material als Zwischenschicht aus; dieses kann, wie besonders festgestellt wurde, auch zur Bereitung von Acetal (VII) verwendet werden. Die Ätherlösung wurde hierauf kurz mit wässriger Kaliumbicarbonatlösung, dann gut mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, zur Sicherheit filtriert und vorsichtig auf ca. 2 cm³ (bis zur eben beginnenden Trübung) eingengt. Nach kurzem Stehen, beim Impfen sofort, begann die Abscheidung von feinen Kryställchen, die nach etwa 10 Minuten abgenutscht und mit Äther, wenig Benzol und dann nochmals gut mit Äther gewaschen wurden. Sie waren leicht bräunlich gefärbt und schmolzen bei 135—136° korr. Da sie sich sehr schlecht umkrystallisieren lassen, diente das Rohprodukt zur Analyse, das zuerst 1 Stunde an der Luft, dann 10 Minuten bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet wurde. Es stellt ein Monohydrat dar.

4,661 mg Subst. gaben	12,37 mg CO ₂ und	3,92 mg H ₂ O
C ₂₁ H ₃₀ O ₃ ·H ₂ O (348,47)	Ber. C 72,38	H 9,26%
	Gef. „ 72,37	„ 9,41%

Bei raschem Arbeiten kann meist aus der Mutterlauge durch Einengen noch etwas desselben Hydrates gewonnen werden. Die Ausbeute an diesen Krystallen betrug gewöhnlich 100—150 mg.

Aus den Mutterlaugen konnte eine höher schmelzende Form meist wie folgt erhalten werden, was aber nicht immer gelang. Die Mutterlaugen wurden mit etwas Benzol versetzt und im Vakuum zum Syrup eingedampft. Dieser wurde offen ca. 16 Stunden stehen gelassen, wobei meist weitgehende Krystallisation eintrat. Dann wurde mit etwas Methanol angerieben, abgenutscht, mit Methanol, etwas Benzol und dann gut mit Äther gewaschen. Es wurde ebenfalls ein leicht bräunlich gefärbtes Krystallpulver erhalten, das bei 170° korr. schmolz und in kaltem Methanol, Benzol und Äther schwer löslich war. Es liegt möglicherweise ein Polymeres vor. Auch diese Form lässt sich schlecht umkrystallisieren.

Beide Formen geben, wie unten erwähnt, dasselbe Dimethylacetal (VII). Zur Bereitung desselben sind auch die öligen Mutter-

laugen, sowie evtl. feste Abscheidungen brauchbar, die leicht bei unvorsichtigem Einengen der Lösungen des Keto-aldehyds erhalten werden. Beide Formen reduzieren ferner alkalische Silber-diammin-Lösung bei Zimmertemperatur ziemlich rasch, wobei meist rotbraune Färbungen eintreten.

Dioxim. 15 mg Keto-aldehyd wurden mit einer Lösung von 65 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 130 mg Natriumacetat in 3,4 cm³ Alkohol und 0,34 cm³ Wasser 2 Stunden auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Nach Zusatz von Wasser wurde im Vakuum stark eingengt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Roher Schmelzpunkt etwa 230°. Zur Analyse wurde das Rohprodukt zweimal aus Alkohol-Benzol durch Einengen umkrystallisiert und mit Äther gewaschen. Es wurden so Krystalle erhalten, die sich bei ca. 225° in kleine Nadeln umwandeln und bei 285—290° schmolzen. Die Substanz stellt ein schwach rosa gefärbtes Pulver dar. Das Trocknen erfolgte im Hochvakuum durch einständiges Erhitzen auf ca. 115°.

	3,178 mg Subst. gaben 8,06 mg CO ₂ und 2,48 mg H ₂ O
	4,270 mg Subst. gaben 0,286 cm ³ N ₂ (20°, 748 mm)
C ₂₁ H ₃₂ O ₃ N ₂ (360,49)	Ber. C 69,96 H 8,95 N 7,77%
	Gef. „ 69,17 „ 8,73 „ 7,60%

Dasselbe Dioxim entstand, als 18 mg des Nitrons mit einer Lösung von 55,5 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 111 mg Natriumacetat in 2,9 cm³ Alkohol und 0,29 cm³ Wasser 2 Stunden auf dem Wasserbad unter Rückfluss erhitzt wurden.

Versetzt man das in wenig Alkohol gelöste Dioxim mit einer wässrigen Lösung von Nickelacetat, so fällt das Nickelsalz als hellbrauner Niederschlag aus, der bis 300° nicht schmilzt. Versucht man das Dioxim im Hochvakuum zu sublimieren, so geht bei 0,01 mm und 210° Badtemperatur alles über. Das Sublimat schmilzt jedoch unscharf bis 300° und stellt somit nicht mehr das unveränderte Dioxim dar. Es gibt auch kein Nickelsalz mehr, weil wahrscheinlich das entsprechende Furazan vorliegt. Trotz mehrmaligem Umkrystallisieren konnte ein scharfer Schmelzpunkt nicht erhalten werden, so dass auf eine Analyse verzichtet wurde.

Chinoxalin. 47 mg Keto-aldehyd vom Smp. ca. 130—138° wurden mit einer Lösung von 40 mg o-Phenylendiamin in 4 cm³ abs. Alkohol 1 Stunde am Rückflusskühler gekocht. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft und der Rückstand aus Benzol-Äther umkrystallisiert. Die unscharf schmelzenden krystallisierten Anteile wurden nun zur Entfernung des überschüssigen o-Phenylendiamins bei 0,05 mm auf 155° erwärmt. Der Rückstand liess sich dann bei 0,02 mm und ca. 240° sublimieren. Das Sublimat wurde zweimal aus Äther-Pentan umkrystallisiert und ergab derbe Prismen, die sich bei

200° in lange Nadeln umwandeln und bei 229-231° schmelzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 0,01 mm und 120° getrocknet.

4,226 mg Subst. gaben 12,485 mg CO₂ und 3,21 mg H₂O
 4,060 mg Subst. gaben 0,250 cm³ N₂ (28°, 762 mm)
 C₂₇H₃₄ON₂ (402,56) Ber. C 80,55 H 8,51 N 6,96%
 Gef. „ 80,60 „ 8,50 „ 7,02%

Dianil. 142,3 mg Keto-aldehyd wurden in 5 cm³ Alkohol gelöst und mit 0,08 cm³ reinstem Anilin (= 2 Mol) versetzt. Dann wurde 10 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt und die schwach gelbgefärbte Lösung im Vakuum zur Trockne gedampft. Der Rückstand liess sich aus Äther-Pentan umkrystallisieren. Durch weiteres Umkrystallisieren aus Alkohol-Benzol durch Einengen und aus Äther-Pentan wurde ein weisses Produkt vom Smp. 85° bis ca. 90° erhalten, das zur Analyse 1 Stunde bei 0,01 mm und 50° getrocknet wurde.

1,989 mg Subst. gaben 0,102 cm³ N₂ (24°, 758 mm)
 C₃₃H₄₀ON₂ (480,67) Ber. N 5,83 Gef. N 5,88%

Pregnen-(5)-ol-(3)-on-(20)-al-(21)-dimethylacetal (VII).

340 mg Keto-aldehyd (Smp. 132 bis ca. 140°) wurden mit 10 cm³ einer 1-proz. methylalkoholischen Salzsäure 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die schwach violett gefärbte Lösung mit überschüssiger wässriger Pottaschelösung versetzt, der Methylalkohol im Vakuum entfernt und die Suspension zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der Rückstand wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 165° Badtemperatur sublimiert, wobei ein beträchtlicher brauner Rückstand hinterblieb. Das Sublimat wurde zweimal aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es wurden 200 mg farblose Krystalldrusen erhalten, die bei 109—111° schmolzen. Das Acetal lässt sich auch ohne Destillation durch Chromatographie an Aluminiumoxyd (standardisiert nach *Brockmann*) reinigen. Es wird dabei mit Benzol, rascher mit Äther eluiert. Ein so gereinigtes Produkt zeigte einen Smp. von 112—113° korr. Zur Analyse wurde es 1 Stunde bei 0,005 mm und 90° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{22} = +39,1^\circ \pm 1^\circ$; $[\alpha]_{5461}^{22} = +52,2^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,202 in Methanol).

22,3 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{22} = +0,86^\circ \pm 0,02^\circ$; $\alpha_{5461}^{22} = +1,15^\circ \pm 0,02^\circ$

2,730 mg Subst. gaben 7,35 mg CO₂ und 2,30 mg H₂O
 4,288 mg Subst. gaben 5,83 mg AgJ (*Zeisel*)
 C₂₃H₃₆O₄ (376,52) Ber. C 73,37 H 9,64 -OCH₃ 16,48%
 Gef. „ 73,42 „ 9,43 „ 17,96%

Dasselbe Acetal wurde ganz analog aus dem bei 172° schmelzenden Keto-aldehyd gewonnen. Es wird ebenfalls erhalten, wenn der Ansatz, anstatt ihn 1 Stunde zu kochen, während 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen wird.

Spaltung mit Säure. 50 mg Acetal wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst, mit 1 cm³ 2-n. wässriger Salzsäure versetzt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Spaltung setzt dann langsam ein, wobei das Reduktionsvermögen gegenüber alkalischer Silber-diammin-Lösung allmählich zunimmt. Nach zwei Tagen konnte jedoch noch eine kleine Menge unverändertes Acetal zurückgewonnen werden. Wird die oben erwähnte Mischung 1 Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, so tritt weitgehende Zersetzung unter Braunfärbung ein.

Pregnen-(4)-dion-(3, 20)-al-(21)-dimethylacetal (VIII).

190 mg Acetal (VII) wurden mit 5 cm³ Aceton, 15 cm³ abs. Benzol und 415 mg frisch im Hochvakuum sublimiertem Aluminiumtert.butylat 24 Stunden gekocht. Dann wurde das Aceton im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 30 cm³ Äther in einen Scheidetrichter gespült und zweimal mit konzentrierter Seignettesalzlösung unter Zusatz von etwas Soda, dann mit Sodalösung und Wasser ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Benzol gelöst, mit 9 Teilen Pentan versetzt und über 6 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Es wurde zuerst zweimal mit je 40 cm³ Benzol-Pentan-Gemisch (1:9) nachgewaschen. Diese Anteile wurden verworfen. Durch zweimaliges Nachwaschen mit je 40 cm³ Benzol-Pentan (1:4) wurden wenig Krystalle erhalten, die bei ca. 120° schmolzen. Hierauf wurde so oft mit Benzol-Pentan-Mischung (1:1) nachgewaschen, als diese noch Material herauslöste. Der Eindampfrückstand dieser Eluate kristallisierte nach mehrtägigem Stehen mit wenig Pentan und schmolz bei ca. 80°. Nachdem einmal Impfkristalle vorlagen, liessen sich alle diese Fraktionen durch Animpfen leicht zur Krystallisation bringen. Durch Nachwaschen der Säule mit Benzol liess sich noch etwas desselben Produktes gewinnen. Hierauf konnte mit Äther noch unverändertes Ausgangsmaterial eluiert werden. Dieses wurde nochmals nach *Oppenauer* oxydiert und das Reaktionsprodukt analog aufgearbeitet. Die vereinigten, bei ca. 80° schmelzenden Rohkrystallisate wurden im Hochvakuum bei 0,015 mm und 200° Badtemperatur sublimiert, wobei jedoch das ganze Material ohne Rückstand übergang. Das Sublimat wurde nochmals wie oben chromatographiert und die reinen Fraktionen zweimal aus Äther-Pentan unkrystallisiert. Es wurden etwa 50 mg farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln erhalten, die bei 84—86° schmolzen. Aus den Mutterlaugen konnten noch etwa 20 mg etwas tiefer schmelzendes Material erhalten werden. Das Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +170,30 \pm 2^0$; $[\alpha]_{5461}^{21} = +207,9^0 \pm 3^0$ ($c = 1,116$ in Aceton).

11,3 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +1,90^0 \pm 0,02^0$; $\alpha_{5461}^{21} = +2,32^0 \pm 0,03^0$

Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 0,01 mm und 60° getrocknet.

	3,768 mg Subst. gaben 10,15 mg CO ₂ und 3,03 mg H ₂ O
	1,159 mg Subst. gaben 1,3 mg AgJ (<i>Zeisel</i>)
C ₂₃ H ₃₄ O ₄ (374,50)	Ber. C 73,76 H 9,15 -OCH ₃ 16,57%
	Gef. „ 73,47 „ 9,00 „ 15,84%

Spaltung mit Säure. 100 mg Acetal (VIII) wurden mit 1 cm³ Eisessig und 1 cm³ 2-n. wässriger Salzsäure 5 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde die wässrige Lösung von 200 mg Natriumbicarbonat zugegeben und mehrmals mit Benzol und Äther ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit Kaliumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 88 mg, war hellgelb gefärbt, leicht löslich in Benzol, ziemlich schwer löslich in Äther, doch gelang es nicht, ihn krystallisiert zu erhalten. Er reduzierte alkalische Silberdiammin-Lösung. Es wurde versucht, ihn im Hochvakuum zu sublimieren. Im Molekularkolben gingen schon bei etwa 150° Badtemperatur ungefähr 10,5 mg über. Trotz weiterem Erwärmen bis 200° folgte nichts mehr. Die Hauptmenge verblieb als hellbraunes Glas im Rückstand. Das Sublimat schied nach mehrtägigem Stehen mit etwas Äther eine kleine Menge von Krystallen ab, die bei 230—240° korr. schmolzen.

21-Chlor-progesteron (IX).

5 g Chlor-pregnenolon, 150 cm³ Aceton (frisch über Calciumchlorid destilliert), 450 cm³ abs. Benzol und 12,5 g frisch im Hochvakuum sublimiertes Aluminium-tert.butylat wurden 24 Stunden unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss gekocht (Schliffkolben). Hierauf wurde im Vakuum fast völlig eingedampft, der Rückstand in reinem Äther aufgenommen und je zweimal mit verdünnter Salzsäure, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen. Die wässrigen Anteile passierten noch zwei Scheidetrichter mit frischem Äther.

Aus der Sodalösung liess sich durch Zusatz von Salzsäure 0,5 g einer krystallisierten Säure abscheiden, die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Dioxan-Äther bei 297—299° korr. schmolz und mit Diazomethan einen Methylester lieferte, der aus Aceton-Pentan, Äther-Pentan oder aus wenig Methanol gut krystallisierte, sich bei 180° und 0,01 mm sublimieren liess und bei 170—174° korr. schmolz. Im U.V.-Absorptionsspektrum zeigte er eine starke Bande mit einem Maximum bei 244 m μ und log ϵ = 4,16 (in Alkohol für Mol.-Gew. = 330,45 berechnet). Zur Analyse wurde der Ester eine Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

4,817 mg Subst. gaben 13,37 mg CO ₂ und 4,00 mg H ₂ O	
C ₂₁ H ₃₀ O ₃ (330,45)	Ber. C 76,42 H 9,15%
	Gef. „ 75,51 „ 9,30%

Es scheint demnach nicht ausgeschlossen, dass ein nicht ganz reiner 3-Keto- Δ^4 -cholen-(4)-säure-methylester vorliegt, der sich vom bekannten Ester (*Steiger, Reichstein, Helv. 20, 1040 (1937)*) durch Stereoisomerie in 17-Stellung unterscheidet.

Die neutralen Ätherlösungen wurden getrocknet und stark eingengt, wobei reichliche Krystallisation eintrat. Es wurde abgenutscht und mit etwas Äther gewaschen. Das fast farblose Produkt

schmolz bei 199—203° korr. Aus der Mutterlauge konnte durch Einengen noch eine weitere Menge derselben Reinheit erhalten werden. Die letzten Krystallisate, die zu tief schmolzen, wurden aus wenig Benzol-Pentan umkrystallisiert. Die Ausbeute an diesem Produkt betrug 2,3 g. Eine Probe wurde zur Analyse chromatographisch gereinigt. Das Produkt lässt sich aus der Aluminiumoxyd-Säule langsam mit Benzol-Pentan (1:1) eluieren. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Benzol-Äther wurden farblose Blättchen erhalten, die bei 203—205° korr. schmolzen. Das Spektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben. Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

4,202 mg Subst. gaben 11,17 mg CO₂ und 3,13 mg H₂O
 4,36 mg Subst. gaben 2,00 mg AgCl
 C₂₁H₂₉O₂Cl (348,9) Ber. C 72,29 H 8,38 Cl 10,18%
 Gef. „ 72,48 „ 8,26 „ 11,36%

Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{24} = +209,5^{\circ} \pm 6^{\circ}$; $[\alpha]_{5461}^{24} = +255,2^{\circ} \pm 7^{\circ}$ ($c = 1,007$ in Chloroform).

10,2 mg $\pm 0,2$ mg Subst. zu 1,0125 cm³, $l = 1$ dm; $\alpha_D^{24} = +2,11^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$;

$\alpha_{5461}^{24} = +2,57^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$.

Desoxy-corticosteron-acetat (X) aus Chlor-progesteron (IX).

100 mg frisch geschmolzenes Natriumacetat wurden in 0,3 cm³ reinstem Eisessig gelöst und nach Zugabe von 50 mg Chlor-progesteron unter Feuchtigkeitsausschluss 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Es trat schon nach kurzer Zeit eine Ausscheidung von Kochsalz ein. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Äther und Wasser getrennt, die Ätherlösung mit Soda und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der mit wenig Äther versetzte Rückstand begann nach Animpfen mit Desoxy-corticosteron-acetat sofort zu krystallisieren. Zur ungefähren Bestimmung der Ausbeute wurde die ganze Menge über eine Säule von 1,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Alle krystallisierenden Eluate (es handelt sich hauptsächlich um die mit Benzol erhaltenen) wurden zusammen aus wenig Aceton-Äther umkrystallisiert. Insgesamt wurden 12 mg Krystalle erhalten, die bei 159—160° korr. schmolzen. Die Mischprobe mit Desoxy-corticosteron-acetat gab keine Depression.

21-Chlor-progesteron (IX) aus Desoxy-corticosteron (I).

200 mg Desoxy-corticosteron (I) wurden in 4 cm³ Chloroform gelöst. Unter lebhaftem Rühren wurden zunächst 200 mg trockenes, gefälltes Calciumcarbonat, dann bei 0° 200 mg gepulvertes Phosphorpentachlorid zugegeben. Nach einstündigem Rühren bei 0° wurde mit Kaliumbicarbonatlösung versetzt und die Suspension 3mal mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand

krystallisierte aus wenig Äther nach Animpfen mit Desoxy-corticosteron teilweise. Die Mutterlauge wurde getrocknet, in Benzol-Pentan (1:1) gelöst und über eine Säule von 5 g Aluminiumoxyd (standardisiert nach *Brockmann*) filtriert. Es wurde noch zweimal mit derselben Mischung nachgewaschen, dann noch mehrmals mit abs. Benzol und mit Äther. Die Eindampfrückstände der Benzol-Pentan-Eluate und des ersten Benzol-Eluats gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Pentan farblose Blättchen, die bei 190—200° schmolzen. Diese wurden vereinigt, nochmals umkrystallisiert und ergaben ca. 5 mg Chlor-progesteron vom Smp. 198—200° korr., das bei der Mischprobe mit analysenreinem Material keine Depression ergab. Da bei diesem Versuch die Hauptmenge von (I) unverändert zurückerhalten wurde, so ist zu erwarten, dass unter etwas energischeren Bedingungen die Ausbeuten besser sein werden. Da das Verfahren aber kaum praktisches Interesse hat, wurde auf die Ausarbeitung verzichtet.

21-Brom-progesteron.

500 mg 21-Brom-pregnenolon, 45 cm³ abs. Benzol, 15 cm³ Aceton und 1,25 g Aluminium-tert.butylat wurden 20 Stunden im Schliffkolben unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Es wurde wie beim Chlor-progesteron aufgearbeitet, wobei aus der Sodalösung 50 mg einer Säure erhalten wurden. Die durch Einengen der neutral gewaschenen Ätherlösung gewonnenen Krystalle schmolzen roh bei 180—190°. Nach Umkrystallisieren aus Benzol-Äther, dann aus Aceton-Äther, wurden farblose Blättchen erhalten, die bei 190° bis 191° unter Zersetzung schmolzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 80° und 0,005 mm getrocknet.

3,284 mg Subst. gaben 7,825 mg CO ₂ und 2,26 mg H ₂ O
C ₂₁ H ₂₉ O ₂ Br (393,39) Ber. C 64,12 H 7,45%
Gef. „ 64,99 „ 7,70%

Das Spektrum der Substanz ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

21-Pyridinium-pregnen-(4)-dion-(3, 20)-chlorid (XI).

1 g 21-Chlor-progesteron (IX) wurden 1 Stunde mit 10 cm³ abs. Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluss auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Zusatz von 10 cm³ Benzol wurde erkalten gelassen und nach zweistündigem Stehen die ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht und mit Benzol gewaschen. Es wurden 1,042 g farblose Krystalle erhalten, die bei 274—275° korr. unter Zersetzung schmolzen. Das Produkt ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, fast unlöslich in Benzol und Äther. Zur Analyse wurde eine Probe aus Alkohol-Benzol durch Einengen umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt blieb unverändert. Es wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,873 mg Subst. gaben 0,120 cm ³ N ₂ (24°, 758 mm)
C ₂₆ H ₃₄ O ₂ NCl (428,0) Ber. N 3,27 Gef. N 3,55%

Das analog bereitete 21-Pyridinium-pregnen-(4)-dion-(3,20)-bromid schmolz bei 265—268° korr. unter Zersetzung.

[3-Keto-ätio-cholen-(4)-oyl]-N-[p-dimethylamido-phenyl]-nitron (XII).

214 mg Pyridinium-chlorid (XI) wurden in 6,7 cm³ Alkohol gelöst und mit 75 mg Nitroso-dimethyl-anilin versetzt. Nach Abkühlen auf -10° wurden 0,5 cm³ n. Natronlauge zugegeben, wobei die Farbe nach Braun-Orange umschlug. Nach 5 Minuten wurden unter weiterer Kühlung vorsichtig 4 cm³ Wasser und, nachdem Krystallisation eingetreten war, allmählich noch 10 cm³ Wasser zugetropft (bei kleineren Vorversuchen war es oft schwierig, die Krystallisation einzuleiten; nachdem aber einmal Impfkristalle vorlagen, liess sie sich immer durch Impfen reproduzieren). Nach kurzem Stehen wurde der Niederschlag abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Eine Probe wurde im Exsikkator getrocknet und schmolz bei 112—118°. Aus den Mutterlaugen lässt sich ein kleiner Rest von Nitron noch durch Ausschütteln mit Äther gewinnen. Dieser ist zur Herstellung des Keto-aldehyds ebenfalls brauchbar. Das Nitron stellt nach dem Trocknen eine orange-gelbe, meist mit etwas dunklen Punkten durchsetzte Krystallmasse dar. Es lässt sich jedoch nur sehr schlecht umkrystallisieren, weshalb auf eine Analyse verzichtet wurde.

Pregnen-(4)-dion-(3,20)-al-(21) (II).

Das feuchte oder im Vakuum-Exsikkator getrocknete Nitron (XII) aus 214 mg Pyridinium-chlorid (XI) wurde im Scheidetrichter mit Äther und verdünnter Salzsäure geschüttelt (in Äther allein löst sich das Nitron meistens nicht glatt). Die Ätherphase wurde noch dreimal mit 2-n. Salzsäure ausgeschüttelt, dann mit Wasser, Kaliumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und bis zur beginnenden Trübung eingedampft. Beim Anreiben erfolgte Krystallisation. Die Krystalle wurden durch Dekantieren mit Äther gewaschen. Sie waren leicht bräunlich gefärbt und schmolzen bei 104—106° (Sintern von 100° an.) Sie wogen etwa 20 mg. Aus der Mutterlauge konnten durch vorsichtiges Einengen noch etwa 58 mg erhalten werden, die bei 93—95° schmolzen.

Es ist bisher nicht gelungen, das Produkt in reproduzierbarer Weise umzukrystallisieren. Am besten gelang dies noch auf folgendem Wege. Die Krystalle werden in wenig Benzol gelöst, die Lösung rasch im Vakuum eingedampft und das verbleibende Harz mit Äther ausgerieben. Geringe Mengen unlösliches Material setzen sich ab. Die klare Ätherlösung wird abgegossen, eingedampft und der Rückstand mehrere Stunden stehen gelassen, wobei meist Krystallisation eintritt. Die Krystalle können dann mit Äther und sogar mit etwas Benzol gewaschen werden, wobei sie rein weiss erhalten

werden können. Die Ausbeute ist jedoch ziemlich schlecht. Der Schmelzpunkt einer so gereinigten Probe betrug 103—106°. Zur Analyse diente ein direkt erhaltenes Rohkrystallisat vom Smp. 104 bis 106°, das nur 10 Minuten im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet wurde. Nach der Verbrennung dürfte ein nicht ganz reines Mono-hydrat vorliegen.

3,603 mg Subst. gaben	9,505 mg CO ₂	und	2,81 mg H ₂ O
C ₂₁ H ₂₈ O ₃ (328,43)	Ber. C 76,80	H 8,59%	
C ₂₁ H ₃₀ O ₄ (346,45)	Ber. „ 72,80	„ 8,73%	
	Gef. „ 71,95	„ 8,73%	

Der Stoff ergibt bei der Aldehydprobe mit 2,4-Dioxy-naphtalin nach *Raudnitz* und *Puluj*¹⁾ keine Rotfärbung, sondern nur eine leicht gelbe Lösung, wenn reiner Eisessig verwendet wird (gewöhnlicher Eisessig enthält meistens Spuren von Aldehyden und gibt selbst schon beim Erwärmen mit Dioxy-naphtalin und Salzsäure eine Rotfärbung). Auch reines Phenyl-glyoxal ergibt mit dem genannten Reagens keine Rotfärbung, sondern nur eine leicht gelbe Lösung. Der reine krystallisierte Aldehyd reduziert alkalische Silber-diammin-Lösung bei Zimmertemperatur erst nach ungefähr einer Minute, wobei meist nicht Schwarz-, sondern rötlich-braune Färbung eintritt.

Dimethylacetal (VIII) aus dem Aldehyd (II). 20 mg krystallisierter Aldehyd (II) wurden mit 1 cm³ einer 1-proz. Lösung von trockenem Salzsäuregas in Methanol zwei Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde mit 0,5 cm³ 2-n. wässriger Sodalösung versetzt und im Vakuum vom Methanol befreit. Die Mischung wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit etwas Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde in Benzol-Pentan (1:4) gelöst und über eine mit Pentan bereitete Säule aus 600 mg Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert. Das Filtrat wurde verworfen. Dann wurde zweimal mit absolutem Benzol nachgewaschen und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde in einer Spur Äther gelöst, mit Pentan nicht ganz bis zur Trübung versetzt und angeimpft. Die Krystallisation setzte sofort ein und wurde durch weiteren Pentan-Zusatz vervollständigt. Erhalten wurden 8 mg Dimethyl-acetal vom Smp. 86—89°. Die Mischprobe mit dem analysenreinen Produkt gab keine Erniedrigung. Aus dem amorphen Aldehyd wurde genau dasselbe Acetal in ähnlicher Ausbeute erhalten. Die Acetalisierung kann auch hier statt durch längeres Stehenlassen ebenso durch einstündiges Kochen erzielt werden, wobei lediglich eine geringe Verfärbung eintritt.

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

Pharmaz. Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *H. Raudnitz* und *G. Puluj*, B. **64**, 2212 (1931).