

149. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe

(30. Mitteilung)¹⁾

Substanz T

von T. Reichstein und J. v. Euw.

(25. VIII. 39.)

In der 20. Mitteilung²⁾ dieser Reihe ist gezeigt worden, dass es gelingt, aus den amorphen Mutterlaugen von Konzentraten aus Nebennieren-Extrakten, aus denen alle direkt krystallisierbaren Anteile weitmöglichst abgetrennt worden waren, noch krystallisierte Stoffe zu erhalten. Es wurden damals relativ wenig wasserlösliche Fraktionen untersucht. Dabei wurde zunächst durch Behandlung mit Bernsteinsäure-anhydrid die Ketol-Fraktion angereichert und letztere nach Acetylierung einer chromatographischen Trennung unterzogen.

In ähnlicher Weise, durch Chromatographierung der Acetate, sind inzwischen auch die Mutterlaugen der leichter wasserlöslichen Fraktionen C. 17. A. 2. und C. 17. A. 3.³⁾ getrennt worden. Diese Fraktionen enthalten besonders die Stoffe der C₂₁—O₄- und C₂₁—O₅-Reihe. Wegen der relativ grossen Wasserlöslichkeit wurde hier auf die Vortrennung mit Bernsteinsäure-anhydrid verzichtet, da diese zu grosse Verluste verursacht hätte. Die genannten Fraktionen C. 17. A. 2. und C. 17. A. 3. wurden dagegen einer groben Vortrennung durch Verteilung zwischen Wasser und Benzol unterworfen, wie sie früher⁴⁾ beschrieben wurde. Für diese Untersuchung dienten die benzollöslichen Anteile.

Die Trennung von 1,54 g eines solchen amorphen Gemisches ergab ausser weiteren Mengen der Acetate der bereits früher daraus abgetrennten Substanzen N, Dehydro-corticosteron, Corticosteron, S, F. a und M noch ein neues, bei 210° korr. schmelzendes Acetat, dessen Analysenwerte auf eine Bruttoformel C₂₅H₃₄₋₃₆O₆ passten. Die zugrunde liegende neue Verbindung soll Substanz T genannt werden.

Das Produkt reduziert alkalische Silber-diammin-Lösung nicht bei Zimmertemperatur⁵⁾, besitzt also keine Ketol-Gruppierung in der

¹⁾ 29. Mitteilung vgl. Helv. **22**, 1212 (1939).

²⁾ T. Reichstein, J. v. Euw, Helv. **21**, 1197 (1938).

³⁾ Vgl. 6. Mitteilung, T. Reichstein, Helv. **19**, 1107 (1936).

⁴⁾ Vgl. 10. Mitteilung, T. Reichstein, Helv. **20**, 953 (1937).

⁵⁾ Wir bezeichnen diese Reaktion nur dann als positiv, wenn eine kleine Menge der zu prüfenden Substanz in der eben nötigen Menge reinstem Methanol gelöst nach Zusatz desselben Volumens einer stark alkalischen Silber-diammin-Lösung nach ca. 2 Minuten eine starke Schwarzfärbung ergibt. Bei längerem Stehen reduzieren alle gewöhnlichen α , β -ungesättigten Ketone etwas. Der Unterschied im Vergleich zu den stark reduzierenden Ketolen ist aber so gross, dass eine Verwechslung kaum möglich ist.

Seitenkette. Dagegen zeigt es im U.V.-Absorptionsspektrum eine starke Bande (vgl. Kurve, Fig. 1)¹⁾ mit einem Maximum bei 240 m μ und $\log \epsilon = \text{ca. } 4,2$, wie sie für α, β -ungesättigte Ketone charakteristisch ist.

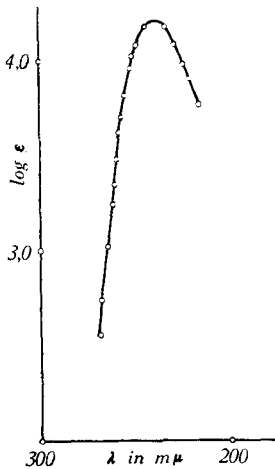
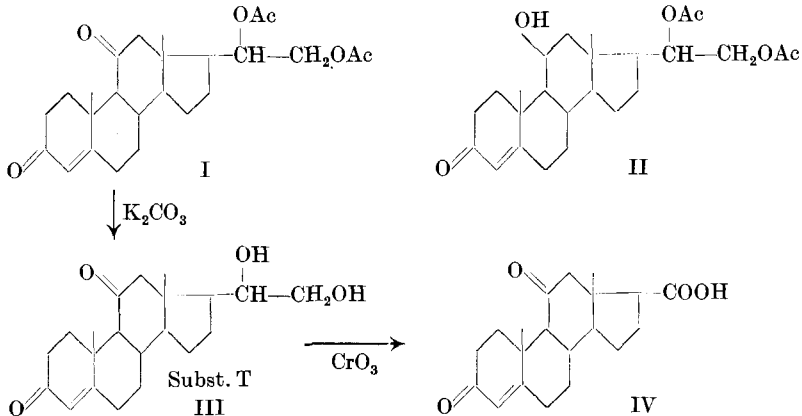


Fig. 1.

Diacetat von Substanz T
1,89 mg in 30 cm³ Alkohol.

Durch alkalische Verseifung mit Pottasche in wässrigem Methanol wird aus dem Acetat die freie Substanz T erhalten, die wegen Materialmangels nicht gereinigt, sondern direkt mit Chromsäure oxydiert wurde. Dabei wurde dieselbe Säure (IV) (*Kendall's acid* 1)²⁾ erhalten, wie sie auch bei der Oxydation von Corticosteron und Dehydro-corticosteron mit Chromsäure erhalten wird.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass Substanz T alkalische Silber-diammin-Lösung nicht reduziert, kann sie demnach nur Formel (III) oder eine analoge mit einer Hydroxylgruppe in 11-Stellung besitzen. Das Diacetat hätte somit Formel (I) oder (II). Dies lässt sich prüfen, denn ein Stoff der Formel (II) müsste durch vorsichtige Oxydation mit Chromsäure in (I) übergehen. Das Diacetat von Substanz T ist aber gegen Chromsäure unter diesen Bedingungen beständig, es kommt ihm somit Formel (I) zu und Substanz T besitzt



¹⁾ Wir verdanken die Aufnahme wiederum der Freundlichkeit von Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mohler in Zürich. Die Auswertung geschah wie früher, vgl. Fussnote 3, Helv. 20, 953 (1937).

²⁾ H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. Mc Kenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. 120, 719 (1937). Siehe daselbst Lit. über frühere Mitteilungen.

Formel (III)¹⁾, die auch mit ihren sonstigen Eigenschaften aufs beste übereinstimmt. Substanz T ist also ein weiteres Isomeres des Corticosterons, das jedoch biologisch kaum wirksam sein dürfte.

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

Experimenteller Teil.

Isolierung des Diacetates von Substanz T.

Als Ausgangsmaterial diente der Benzolrest 3 aus Fraktion C. 17. A. 2., dessen Gewinnung auf S. 563 der 17. Mitteilung²⁾ beschrieben ist, sowie ein genau gleich aus Fraktion C. 17. A. 3. gewonnener Benzolrest 3, die zusammen verarbeitet wurden. Sie stellten leicht bräunlich gefärbte, glasige Massen dar.

1,6 g des genannten Materials wurden zur Verseifung evtl. vorhandener Ester in 130 cm³ Methanol gelöst und, mit der Lösung von 1,6 g Kaliumbicarbonat in 30 cm³ Wasser versetzt, 44 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Methanol und ein Teil des Wassers im Vakuum bei 40° Badtemperatur abgedampft und der Rückstand 4mal mit insgesamt 1,5 Liter reinstem Benzol sehr energisch ausgeschüttelt. Die Benzollösungen wurden zweimal mit je 5 cm³ Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im reduzierten Vakuum bei 50° Badtemperatur eingedampft. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wog 1,54 g. Weitere Benzol-auszüge lieferten nur noch knapp 10 mg.

Das vorverseifte Material wurde zur Acetylierung in 8 cm³ trockenem Pyridin gelöst, mit 5 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 44 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 500 cm³ Äther gelöst und mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen. Zur Vermeidung von Verlusten wurden noch vier weitere Scheidetrichter mit je 300 cm³ Äther vorgelegt, durch welche alle wässrigen Auszüge zu passieren hatten und wo sie nochmals energisch ausgeschüttelt wurden. Die Ätherlösungen wurden getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 1,8 g.

Die 1,8 g wurden in 90 cm³ absolutem Benzol gelöst und nach Zusatz von 60 cm³ Pentan durch eine mit Pentan bereitete Säule von 55 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert. Es wurde jeweils mit 150 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen. Jede Fraktion wurde für sich eingedampft, der Rückstand in ein kleines Gläschen gespült, getrocknet

¹⁾ Dies setzt selbstverständlich voraus, dass die Formel des Corticosterons richtig ist. Ein eindeutiger Beweis fehlt noch für die 3- und 11-Stellung formulierten Sauerstoffatome, sowie für die 4-Stellung der Doppelbindung.

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

und mit etwas eines passenden Lösungsmittels versetzt. (Äther-Pentan für die ersten Fraktionen, Äther allein für die schwerer löslichen und wenig Aceton unter Zusatz von Äther für die letzten.) Wenn Krystallisation eintrat, wurde nach längerem Stehen mit etwas entsprechendem Lösungsmittel gewaschen. Die Schmelzpunktsangaben beziehen sich auf die einmal gewaschenen Rohkrystallisate (s. Tabelle 1, S. 1226).

Weiter wurde mit steigenden Mengen Aceton, schliesslich noch mit reinem Aceton und mit Essigester eluiert. Diese Filtrate gaben aber keine Krystalle mehr.

Die Krystalle aus den Fraktionen 6—10 gaben durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan 92 mg reines Acetat der Substanz N vom Smp. 143—145° korr. Aus den Fraktionen 11—27 wurden durch Umkrystallisieren aus Methanol 38 mg reines Diacetat der Substanz T vom Smp. 212—213° korr. erhalten, sowie noch 25 mg etwas weniger reines Material. Aus den Fraktionen 28—32 wurden Dehydro-corticosteron-acetat vom Smp. 178—180° und aus 36—45 Corticosteron-acetat (45 mg) vom Smp. 147—148° gewonnen.

Auch aus den benzollöslichen Teilen der ersten Benzol-Wasser-trennung von C. 17. A. 3., deren Gewinnung auf S. 963 der 10. Mitteilung¹⁾ beschrieben ist, liess sich auf analogem Wege noch etwas Substanz T gewinnen.

2,04 g dieser Fraktion wurden mit Kaliumcarbonat vorverseift und gaben 1,95 g vorgereinigtes Material. Aus diesem wurde durch Acetylierung 2,18 g Acetat-Gemisch erhalten, das wie oben chromatographiert wurde. Erhalten wurden: 20 mg Diacetat von Substanz T, das aber schwerer zu reinigen war als das aus dem Benzolrest 3 gewonnene. Ferner wurden noch 220 mg reines Dehydro-corticosteron-acetat, 100 mg Corticosteron-acetat und aus der mit einem Gemisch von 80 % Äther und 20 % Aceton eluierten Fraktion etwa 2 mg Acetat der Substanz S erhalten. Mit mehr Aceton folgten dann die Acetate von Substanz F. a und Substanz M.

Zur Analyse wurde das Diacetat von Substanz T eine Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,668 mg Subst. gaben 9,34 mg CO₂ und 2,64 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₄ O ₆ (430,52)	Ber. C 69,74	H 7,95%
	Gef. „ 69,46	„ 8,05%

Oxydationsversuch.

4 mg reines Diacetat wurden mit der Lösung von 2 mg Chromtrioxyd in 0,2 cm³ reinstem Eisessig vermischt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es trat weder Verfärbung noch Fällung ein. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung

¹⁾ Helv. 20, 963 (1937).

Tabelle 1.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Aussehen des Filtrat-Eindampf-Rückstandes resp. Schmelzpunkt des Rohkrystallisates daraus
1.	60% Benzol 40% Pentan	Öl
2.	75% „ 25% „	„
3.	90% „ 10% „	„
4.	95% „ 5% „	„
5.	100% „ —	„
6.	100% „	Kryst.
7.	100% „	140—144°
8.	100% „	Kryst.
9.	100% „	148—150°
10.	100% „	Kryst.
11.	100% „	125—202°
12.	100% „	211—214°
13.	100% „	Kryst.
14.	100% „	205—213°
15.	100% „	Kryst.
16.	100% „	211—213°
17.	100% „	Kryst.
18.	100% „	209—213°
19.	100% „	Kryst.
20.	100% „	207—213°
21.	100% „	Kryst.
22.	100% „	„
23.	100% „	198—209°
24.	100% „	Kryst.
25.	100% „	„
26.	99% „ 1% abs. Äther	„
27.	98% „ 2% „	„
28.	97% „ 3% „	170—180°
29.	95% „ 5% „	167—180°
30.	92% „ 8% „	Kryst.
31.	90% „ 10% „	140—180°
32.	85% „ 15% „	Kryst.
33.	80% „ 20% „	Öl
34.	70% „ 30% „	„
35.	60% „ 40% „	95—190°
36.	55% „ 45% „	144—152°
37.	50% „ 50% „	Kryst.
38.	40% „ 60% „	150—155°
39.	30% „ 70% „	Kryst.
40.	15% „ 85% „	149—151°
41.	100% Äther	Kryst.
42.	100% „	149—151°
43.	100% „	Kryst.
44.	100% „	„
45.	95% „ 5% Aceton	148—150°
46.	90% „ 10% „	150—212°
47.	85% „ 15% „	Harz

wurde neutral gewaschen, getrocknet, eingeengt und mit Pentan versetzt. Es trat sofort Krystallisation ein. Die farblosen Krystalle erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als unverändertes Ausgangsmaterial.

Abbau zur 3, 11-Diketo-ätio-cholen-(4)-säure.

20 mg Diacetat wurden in 2 cm³ Methanol heiss gelöst, mit der Lösung von 9 mg Kaliumcarbonat in 0,1 cm³ Wasser versetzt und eine Stunde unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit etwas Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 12 mg und schmolz roh bei ca. 210⁰ korr. Er wurde mit der Lösung von 10 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ reinstem Eisessig vermischt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Trennung gab nur eine Spur Neutralstoffe, dagegen etwa 6 mg einer krystallisierten Säure. Durch Umkrystallisieren aus Äther wurden 4,5 mg Krystalle vom Smp. 265 bis 275⁰ korr. erhalten. Diese wurden mit Diazomethan in den Methyl-ester verwandelt und derselbe aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Er schmolz bei 178—180⁰ korr. und gab mit dem genau gleich hoch schmelzenden Ester aus Corticosteron keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Mikroanalyse wurde von Herrn Dr. *O. Schwarzkopf*, Paris, ausgeführt.

Pharmaz. Anstalt der Universität Basel.

150. Alfred Berthoud

Professeur de chimie à l'Université de Neuchâtel,

Président de la Société suisse de chimie

1874—1939

(30. VIII. 39.)

En la personne du professeur A. Berthoud, la science chimique a perdu un de ses serviteurs les plus vaillants et les plus probes.

Revoyant dans son ensemble l'œuvre écrite par le savant disparu, l'auteur de cette notice, qui plaçait très haut l'amitié dont voulait bien l'honorer Alfred Berthoud, a été frappé non seulement par son importance, qu'il connaissait bien, mais aussi par la pensée, éprise de logique et de rectitude, qui l'anime d'un bout à l'autre. Sans doute apprécie-t-on les mémoires d'un chimiste de valeur alors