

128. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

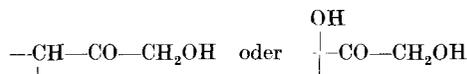
41. Mitteilung¹⁾.

Pregnen-(4)-diol-(17, 20)-on-(3)-al-(21)-monoacetat-(20)

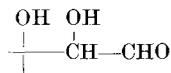
von J. von Euw und T. Reichstein.

(2. IX. 40.)

Von den verschiedenen bisher aus Nebennieren in reiner Form isolierten Substanzen stellen diejenigen Vertreter, die typische „Cortin-Wirksamkeit“ besitzen, durchwegs substituierte Progesteron-Derivate dar mit einer Oxy- oder Dioxy-aceton-Gruppierung

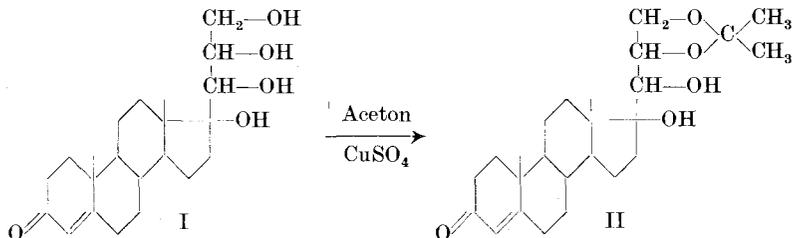


in der Seitenkette. Von *Kendall* sind für einzelne dieser Stoffe früher auch Formulierungen mit einer Dioxy-aldehyd-Gruppierung



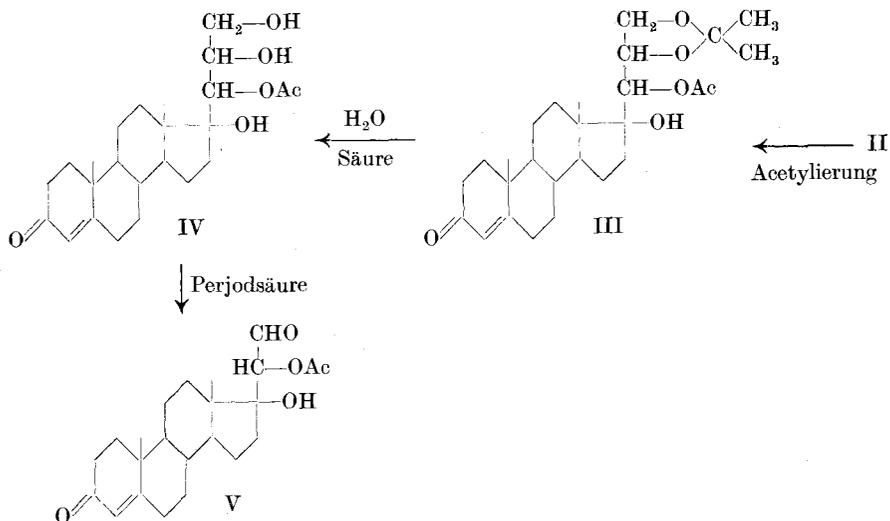
in der Seitenkette in Erwägung gezogen worden²⁾. Diese haben sich aber als unrichtig erwiesen und sind inzwischen zugunsten der oben erwähnten Ketolformeln aufgegeben worden.

Obleich es bisher nicht gelungen ist, aus Nebennierenextrakten Substanzen zu isolieren, die eine Oxyaldehyd-Gruppierung enthalten, besteht natürlich trotzdem die Möglichkeit, dass solche Stoffe darin vorkommen und an der biologischen Wirksamkeit der genannten Extrakte massgebend beteiligt sind. Zur Entscheidung dieser Frage wurde die Teilsynthese des Aldehyds (V) durchgeführt. Sie gelang in folgender Weise.



¹⁾ 40. Mitteilung, *C. W. Shoppee*, *Helv.* **23**, 925 (1940).

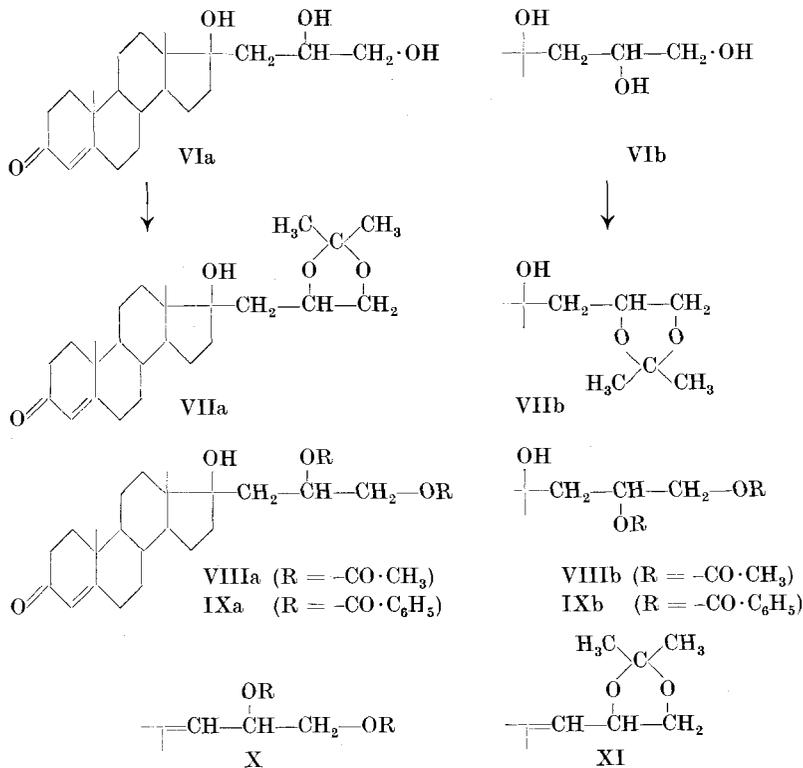
²⁾ *E. C. Kendall, H. L. Mason, B. F. McKenzie, C. S. Myers*, *J. Biol. Chem.* **109**, 1 (1935). *Scientific Proceedings XXIX Soc. of Biol. Chem.*; *E. C. Kendall, H. L. Mason, C. S. Myers, W. D. Allers, J. Biol. Chem.* **114**, lvii (1936). *Scientific Proceedings XXX Soc. of Biol. Chem.* Vorübergehend wurde auch eine andere Oxyaldehydgruppierung vorgeschlagen. *H. L. Mason, C. S. Myers, E. C. Kendall, J. Biol. Chem.* **114**, 613 (1936.)



Schüttelt man [α, β, γ -Trioxypropyl]-testosteron (I)¹⁾ einige Stunden mit Aceton und wasserfreiem Kupfersulfat, so wird in guter Ausbeute eine Monoaceton-Verbindung erhalten. Wie aus dem Verlauf der weiteren Umsetzungen hervorgeht, kann diese nur die Formel (II) besitzen. Durch Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin entsteht daraus das Monoacetat (III). Wird dieses 1—2 Stunden mit wässriger Essigsäure auf etwa 55° erwärmt, so tritt Abspaltung des Acetons ein, und es wird das Monoacetat (IV) erhalten. Der Beweis, dass sich die Acetyl-Gruppe wirklich in 20-Stellung befindet, wird durch die anschliessende Oxydation mit überschüssiger Perjodsäure erbracht. Es resultiert dabei ein reduzierender Stoff, dessen Analysen gut auf die verlangte Bruttoformel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$ passen. Bei jeder anderen Lage der Acetyl-Gruppe hätte mit Perjodsäure ein Abbau bis zum bekannten Androsten-(4)-dion-(3,17) stattfinden müssen. Das Endprodukt, dem somit die Formel (V) zu erteilen ist, stellt also das Monoacetat des gesuchten Aldehyds dar. Wie in der folgenden Mitteilung gezeigt wird, besitzt dieser Aldehyd in 17-Stellung β -Konfiguration, unsicher ist somit lediglich die sterische Anordnung der Substituenten am C-Atom 20. Der Stoff krystallisiert gut, schmilzt bei 206° korr., reduziert in wenig Methanol gelöst alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur und gibt, auf dem Objektträger mit etwas konz. Schwefelsäure befeuchtet, eine braun-orange Lösung, die auf schwarzer Unterlage beobachtet lebhaft grün fluoresziert. Eine solche grüne Fluoreszenzreaktion wurde zuerst von Wintersteiner und Pfiffner für ihre „Compound F“ (identisch mit Subst. Fa unserer Nomenklatur, sowie mit Kendall's „Compound E“)

¹⁾ A. Butenandt, D. Peters, B. 71, 2688 (1938).

beschrieben¹⁾. Auch die Substanzen E, M, Corticosteron und Pregnen-(4)-triol-(17 β ,20,21)-on-(3) geben diese grüne Fluoreszenz, nicht jedoch 11-Dehydro- und 11-Desoxy-corticosteron. Bemerkenswert ist, dass bei der Abspaltung des Acetons keine Wanderung der Acetyl-Gruppe zur primären Hydroxyl-Gruppe eingetreten ist. Bekanntlich tritt eine solche Wanderung bei Glycerin-Derivaten sehr leicht ein. Daher lassen sich beispielsweise nur aromatische β -Ester des Glycerins auf ähnlichem Wege bereiten, nicht jedoch die einfachen β -Ester mit aliphatischen Säuren²⁾.



Bevor der beschriebene Weg beschritten wurde, versuchten wir, das erstrebte Ziel in etwas anderer Weise zu erreichen. Ausgangen wurde von den zwei in 21-Stellung stereoisomeren β, γ -Dioxypropyl-testosteronen (VIa) und (VIb), die ebenfalls von *Butenandt* und *Peters*³⁾ beschrieben sind. Durch Acetonierung liessen sie sich in die zugehörigen Aceton-Verbindungen (VIIa) und (VIIb) überführen. Diese Aceton-Verbindungen lassen sich durch

¹⁾ O. Wintersteiner, J. J. Pfiffner, J. Biol. Chem. **116**, 291 (1936).

²⁾ E. Fischer, B. **53**, 1621 (1920). Vgl. ferner die Literaturzusammenstellung von B. F. Daubert, C. G. King, Am. Soc. **61**, 3328 (1939).

³⁾ A. Butenandt, D. Peters, B. **71**, 2688 (1938).

Chromatographie weitgehend trennen und durch Krystallisation völlig reinigen. Durch Erwärmen mit wässriger Essigsäure kann das Aceton wieder abgespalten werden. Die so zurückerhaltenen Triole (VIa) und (VIb) sind besonders rein. Es wurde hierauf versucht, aus diesen Aceton-Verbindungen Wasser abzuspalten, um so zu Stoffen vom Typus (XI) zu gelangen, die durch Hydroxylierung in (II) hätten übergeführt werden sollen. Diese Versuche gaben aber keine krystallisierten Produkte und wurden daher abgebrochen. Die reinen Triole (VIa) und (VIb) wurden dann noch in die öligen Acetate (VIIIa), und (VIIIb) sowie in die krystallisierten Benzoate (IXa) und (IXb) übergeführt. Vorversuche, um aus diesen Verbindungen durch Wasserabspaltung Stoffe vom Typus (X) zu erhalten, schlugen fehl, daher wurde schliesslich der eingangs erwähnte Weg beschritten.

Über die Resultate der biologischen Prüfung der neuen Substanz (V) wird später berichtet.

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

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

17 α -Allyl-androstendiol.

Eine grössere Menge dieses Produktes wurde nach einer uns von Herrn Dr. K. Miescher freundlichst zur Verfügung gestellten Vorschrift, in geringer Abänderung der Angaben von *Butenandt* und *Peters*¹⁾ wie folgt hergestellt:

13 g Magnesiumspäne wurden mit Jod aktiviert, ebenso 3 g Späne einer Magnesium-Kupferlegierung (12 % Kupfer)²⁾. Sie wurden noch warm in einen mit Rührvorrichtung und Rückflusskühler versehenen Rundkolben eingetragen und sofort mit absolutem Äther bedeckt. Zuerst wurde eine Mischung von 5 cm³ Allylbromid und 20 cm³ Äther eingetropf, wobei die Reaktion einsetzte. Anschliessend wurde unter lebhaftem Rühren die Mischung von 65 cm³ Allylbromid, 20 g *t*-Dehydro-androsteron-acetat und 300 cm³ absolutem Äther innerhalb $\frac{3}{4}$ Stunden zutropfen gelassen. Nachdem die lebhafteste Reaktion beendet war, wurde unter weiterem Rühren noch 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Eis und Salzsäure zerlegt, im Scheidetrichter gut durchgeschüttelt und der fest ausgefallene Teil auf einer Nutsche abfiltriert. Die feste Masse wurde mit Aceton ausgekocht und durch Filtration von unlöslichen Verunreinigungen befreit. Die Acetonlösung wurde auf 100 cm³ eingengt,

¹⁾ A. Butenandt, D. Peters, B. **71**, 2688 (1938).

²⁾ H. Gilman, J. M. Peterson, F. Schulze, R. **17**, 19 (1928). Herstellung vgl. T. Reichstein, A. Grüssner, H. Zschokke, Helv. **15**, 1071 (1932).

mit 2 Liter Äther verdünnt und diese Lösung mit dem ersten Filtrat zusammen gründlich mit wässriger Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und auf 200 cm³ eingengt. Nach 1-stündigem Stehen wurden die auskrystallisierten farblosen Nadeln abgesaugt und mit Äther gewaschen. Sie schmolzen bei 156—157° und wogen 16,8 g. Die Mutterlauge gab nach Trennung mit *Girard's* Reagens, Acetylierung und Chromatographie neben etwas *t*-Dehydro-androsteron noch eine weitere Menge 17 α -Allyl-androstendiol als 3-Monoacetat sowie etwas 17 β -Allyl-androstendiolmonoacetat (vgl. spätere Mitteilung). Das durch Acetylierung mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid bei Zimmertemperatur bereitete 3-Monoacetat krystallisierte aus Aceton-Äther in langgestreckten, sechseckigen Blättchen vom Smp. 158—159°. Sie gaben bei der Mischprobe mit dem ähnlich schmelzenden freien Diol eine starke Schmelzpunkts-Erniedrigung.

17 α -Allyl-testosteron.

Das Produkt wurde im Wesentlichen nach den Angaben von *Butenandt* und *Peters*¹⁾ bereitet. Zur Oxydation von 9 g Allyl-androstendiol benützten wir 22,5 g Aluminium-tert.-butylat, 540 cm³ absolutes Benzol und 270 cm³ trockenes Aceton. Die Mischung wurde unter Feuchtigkeitsausschluss 24 Stunden unter Rückfluss gekocht, im Vakuum fast völlig eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es blieben 9,3 g Rohprodukt, die direkt über eine Säule von 240 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt wurden. Mit Petroläther liessen sich zunächst kleine Mengen von Verunreinigungen herunterwaschen. Durch Elution mit absolutem Benzol (ca. 30mal mit je 0,5 Liter) sowie mit einer Mischung von 95% Benzol und 5% absolutem Äther wurde Allyl-testosteron eluiert und durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gereinigt. Durch anschliessendes Nachwaschen der Säule mit absolutem Äther wurde das unveränderte Allyl-androstendiol eluiert.

Erhalten wurden 6,3 g Allyl-testosteron als farblose Nadeln vom Smp. 113—114°, sowie 1,2 g Allyl-androstendiol vom Smp. 156 bis 157°.

Wasserabspaltung aus Allyl-testosteron.

Bei der Wasserabspaltung aus Allyl-testosteron mit Phosphoroxchlorid und Pyridin nach *Butenandt* und *Peters*¹⁾ hatten wir anfangs Schwierigkeiten. Es zeigte sich dann, dass bei dieser Reaktion zunächst ein phosphorhaltiges Zwischenprodukt gebildet wird (wahr-

¹⁾ A. *Butenandt*, D. *Peters*, B. **71**, 2688 (1938).

scheinlich befindet sich der Phosphor im Ring A). Dieses zerfällt erst bei saurer Reaktion. Es wurde daher wie folgt gearbeitet.

1,1 g Allyl-testosteron, 2,2 cm³ Phosphoroxychlorid und 50 bis 70 cm³ Pyridin wurden zusammen 15 Minuten unter Rückfluss gekocht, dann abgekühlt, auf 100 g Eis gegossen und unter lebhaftem Rühren mit konz. Salzsäure (ca. 70 cm³) bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Der Niederschlag wurde abgenutscht, in 10 cm³ Methanol gelöst, mit 1 cm³ konz. Salzsäure versetzt und 1 Minute gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Äther und Wasser in einen Scheidetrichter gespült und die ätherische Schicht mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 950 mg. Durch Umkrystallisieren aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Wasser wurden 400 mg farbloser Stäbchen vom Smp. 169 bis 171° erhalten. Durch Sublimation der Mutterlaugen und Umkrystallisieren des Sublimates wurden nochmals 200 mg derselben Reinheit gewonnen. Die ganze Menge sublimierte im Molekularkolben bei 0,02 mm und 140—150° Badtemperatur. Einmaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther brachte den Smp. auf 173—175°.

Monoaceton-dioxypropyl-testosterone (VIIa) (VIIb).

5,5 g Allyl-testosteron wurden mit 5 g Osmiumsäure nach *Butenandt* und *Peters*¹⁾ hydroxyliert. Erhalten wurden 1,0 g fast reines Trioxyketon a (VIa) vom Smp. 226—231°; ferner 2,1 g rohes Trioxyketon b (VIb) vom Smp. 190—195°.

Monoaceton-dioxypropyl-testosteron a (VIIa). 120 mg fast reines Dioxypropyl-testosteron a (VIa) vom Smp. 228—230° wurden in 50 cm³ über Calciumchlorid destilliertem Aceton gelöst, mit 1,2 g wasserfreiem Kupfersulfat versetzt und 48 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Dann wurde filtriert, mit Aceton nachgewaschen, die Lösung mit 0,5 g gepulverter Pottasche versetzt und wiederum filtriert. Das Filtrat hinterliess beim Eindampfen im Vakuum 130 mg syrupösen Rückstand, der über 3,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt wurde. Es wurde jeweils mit 25 cm³ Lösungsmittel nachgewaschen. Die ersten beiden mit einer Mischung von 20 % Benzol und 80 % Pentan erhaltenen Eluate krystallisierten nicht. Die folgenden drei mit demselben Lösungsmittel gewonnenen Eluate gaben Krystalle, die bei 110—130° schmolzen. Anschliessend wurde mit absolutem Benzol sowie mit Äther eluiert. Alle diese Filtrate gaben gut krystallisierte Rückstände, die nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan bei 135—136° schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

¹⁾ *A. Butenandt, D. Peters, B. 71, 2688 (1938).*

4,945 mg Subst. gaben 13,545 mg CO₂ und 4,22 mg H₂O

C₂₅H₃₃O₄ (402,55) Ber. C 74,59 H 9,51%
 Gef. „ 74,75 „ 9,49%

Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +37,7^0 \pm 2^0$; $[\alpha]_{5461}^{15} = +45,2^0 \pm 2^0$ ($c = 1,061$ in Aceton).

10,739 mg zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,40^0 \pm 0,02^0$; $\alpha_{5461}^{15} = +0,48^0 \pm 0,02^0$

Monoaceton-dioxypropyl-testosteron b (VIIb). 2 g un-reines Triol b (VIb) wurden in 200 cm³ Aceton gelöst, mit 6 g wasserfreiem Kupfersulfat versetzt und 48 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Die Aufarbeitung, wie bei Triol a, gab 2 g rohe Aceton-Verbindung, die über 50 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt wurde. Nachgewaschen wurde mit je 200 cm³ Lösungsmittel. Die ersten zwei mit einer Mischung von 20% absolutem Benzol und 80% Pentan erhaltenen Eluate gaben nur eine kleine Menge öliges Material. Die folgenden zehn mit Benzol-Pentan (1:1) sowie ein erstes mit absolutem Benzol erhaltenes Filtrat gaben Eindampfrückstände, die bei Zusatz von Pentan gallertig erstarrten, bei ca. 110° schmolzen und weitgehend reine Aceton-Verbindung b (VIIb) darstellten. Ein weiteres mit absolutem Benzol erhaltenes Eluat schmolz bei 90—100° und erwies sich als Gemisch. Die folgenden mit Benzol sowie mit Benzol-Äther erhaltenen Eluate gaben aus Äther-Pentan Krystalle vom Smp. 134° und erwiesen sich als Aceton-Verbindung a (VIIa).

Die gallertigen Fraktionen gaben durch Umkrystallisieren aus wenig Methanol-Wasser unter langsamem Abkühlen bis auf 0° rautenförmige Blättchen vom Smp. 107—107,5°. Total wurden 1,25 g dieser reinen Aceton-Verbindung b (VIIb) sowie 530 mg reine Aceton-Verbindung a (VIIa) erhalten.

Eine Probe der reinen Aceton-Verbindung b (VIIb) wurde 12 Stunden an der Luft und anschliessend noch 1 Stunde im Exsikkator über Calciumchlorid, aber ohne Vakuum getrocknet; sie erwies sich als Halbhydrat.

5,161 mg Subst. bei 80° im Hochvakuum getrocknet, verloren 0,123 mg H₂O

C₂₅H₃₃O₄ · $\frac{1}{2}$ H₂O (411,56) Ber. H₂O 2,19 Gef. H₂O 2,38%

5,038 mg Subst. (trocken) gaben 13,82 mg CO₂ und 4,37 mg H₂O

C₂₅H₃₃O₄ (402,55) Ber. C 74,59 H 9,51%
 Gef. „ 74,86 „ 9,71%

Die spezifische Drehung des Halbhydrates betrug: $[\alpha]_D^{16} = +61,0^0 \pm 2^0$; $[\alpha]_{5461}^{16} = +71,3^0 \pm 2^0$ ($c = 1,066$ in Aceton).

10,791 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,65^0 \pm 0,02^0$; $\alpha_{5461}^{16} = +0,76^0 \pm 0,02^0$

Reines Triol b (VIb) aus Aceton-Verbindung (VIIb).

230 mg reine Aceton-Verbindung b (VIIb) wurden mit 2,5 cm³ reinstem Eisessig und 2,5 cm³ Wasser 2 Stunden auf 60° erwärmt.

Dann wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus 2 cm³ Aceton unter Zusatz von 2 cm³ Äther umkrystallisiert. Erhalten wurden 200 mg reines Triol b vom Smp. 207—207,5°, sowie noch 8 mg etwas weniger reines Produkt aus den Mutterlaugen. Beim Erwärmen zeigte dieser Stoff bei etwa 150—160° eine teilweise Umwandlung in rautenförmige Blättchen.

Triol-dibenzoat a (IXa).

100 mg Triol a (VIa) wurden zur Entfernung von Krystallwasser in einer Ampulle mit der nötigen Menge Chloroform in Lösung gebracht. Nach Zusatz von Toluol wurde die Mischung im Vakuum bei 50° Badtemperatur eingedampft und gut getrocknet. Der Rückstand wurde in 1 cm³ trockenem Pyridin gelöst, mit 170 mm³ Benzoylchlorid versetzt und eingeschmolzen. Die Mischung wurde 30 Minuten auf 60° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde sie mit Äther in einen Scheidetrichter gespült, mit Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der harzige Rückstand wurde in wenig Methanol gelöst und bei —15° stehen gelassen. Nach längerer Zeit trat Krystallisation ein. Zum Umkrystallisieren wurde das Material in Aceton gelöst, die Lösung eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und geimpft. Es trat bald Krystallisation ein, die durch kurzes Stehen bei 0° vervollständigt wurde. Die farblosen Körner wurden abgenutscht, mit Methanol, dann mit Äther-Pentan gewaschen und 1 Stunde im Hochvakuum bei 70° getrocknet. Smp. 169—170°.

3,855 mg Subst. gaben 10,71 mg CO₂ und 2,52 mg H₂O

C₃₆H₄₂O₆ (570,72) Ber. C 75,76 H 7,42%

Gef. „ 75,81 „ 7,32%

Triol-dibenzoat b (IXb).

100 mg Triol b (VIb) (über die Aceton-Verbindung gereinigt) wurden wie beim Triol a beschrieben, benzoiliert. Das Produkt krystallisierte leicht aus Aceton-Äther. Es wurden insgesamt 104 mg meist sechseckiger Körnchen vom Smp. 161—162° erhalten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,916 mg Subst. gaben 13,64 mg CO₂ und 3,27 mg H₂O

C₃₆H₄₂O₆ (570,72) Ber. C 75,76 H 7,42%

Gef. „ 75,72 „ 7,44%

Weitere Versuche.

Die aus den Triolen (VIa) und (VIb) mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid bei Zimmertemperatur bereiteten Acetate krystallisierten nicht. Wasserabspaltungsversuche mit den Aceton-Verbindungen, Acetaten und Benzoaten, die in verschiedener Weise durchgeführt wurden, gaben keine brauchbaren Resultate.

[α , β , γ -Trioxypropyl]-testosteron (I) und Nebenprodukt

[α , β , γ -Trioxypropyl]-testosteron (I) wurde nach *Butenandt* und *Peters*¹⁾ durch Hydroxylierung des aus Allyl-testosteron gewonnenen Triens bereitet. Aus 720 mg Trien wurden 125 mg kristallisiertes Tetrol vom Smp. 220—240° erhalten. Durch zweimaliges Umkristallisieren aus Alkohol gaben diese 80 mg vom Smp. 239—244°. Die Mutterlaugen der Rohkristalle schieden beim Stehen ein zweites Produkt in groben Drusen aus. Diese wurden mechanisch ausgesucht und für sich aus Aceton umkristallisiert. Erhalten wurden 8 mg feiner Nadeln vom Smp. 142—143° und aus den Mutterlaugen noch ca. 10 mg fast reines Produkt. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,520 mg Subst. gaben 12,535 mg CO₂ und 3,75 mg H₂O

C₂₂H₃₂O₃ (344,48) Ber. C 76,70 H 9,36%
Gef. „ 75,68 „ 9,28%

Es liegt offenbar ein Diol vor, das aber entweder nicht ganz rein oder nicht ganz trocken war.

Monoaceton-[α , β , γ -trioxypropyl]-testosteron (II).

200 mg Tetrol (I) wurden in 500 cm³ Aceton gelöst, mit 3 g wasserfreiem Kupfersulfat versetzt und 15 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Es wurde filtriert, mit Aceton nachgewaschen, die klare Lösung 10 Minuten mit etwas gepulverter Pottasche geschüttelt und erneut filtriert. Das klare Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand in absolutem Äther gelöst, nochmals filtriert und die Lösung wiederum eingedampft. Der Rückstand wog 230 mg. Durch Umkristallisieren aus Äther wurden 185 mg Krystalle vom Smp. 220—235° erhalten. Eine Probe wurde aus wenig Aceton umkristallisiert und gab feine, farblose Nadeln vom Smp. 235—236,5°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,611 mg Subst. gaben 12,13 mg CO₂ und 3,75 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₅ (418,55) Ber. C 71,74 H 9,08%
Gef. „ 71,80 „ 9,10%

Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = + 66,7^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,914 in Dioxan).

9,260 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = + 0,61^\circ \pm 0,02^\circ$

Monoaceton-[α , β , γ -trioxypropyl]-testosteron-acetat-(20)
(III).

185 mg der Aceton-Verbindung (II) vom Smp. 220—235° wurden in 2 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 1,5 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 2 Stunden auf 60° erwärmt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Lösung mit

¹⁾ *A. Butenandt, D. Peters, B. 71, 2688 (1938).*

verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 205 mg. Er wurde aus Äther umkrystallisiert und gab 150 mg Krystalle vom Smp. 205—217°. Eine Probe wurde zur Analyse aus Aceton-Äther umkrystallisiert. Es wurden farblose Rhomben und langgestreckte Sechsecke erhalten, die bei 221—223° schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

2,636 mg Subst. gaben 6,805 mg CO₂ und 2,12 mg H₂O
 C₂₇H₄₀O₆ (460,59) Ber. C 70,40 H 8,75%
 Gef. „ 70,45 „ 9,00%

Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +107,4^0 \pm 2^0$ (c = 2,01 in Aceton).

20,1 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{17} = +2,16^0 \pm 0,02^0$

[α , β , γ -Trioxypropyl]-testosteron-monoacetat-(20) (IV).

a) Aus der Acetonverbindung.

80 mg der acetylierten Aceton-Verbindung (III) wurden in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,8 cm³ Wasser versetzt und hierauf 1½ Stunden auf 55° erwärmt. Dann wurde im Vakuum bei 50° Badtemperatur vollständig eingedampft. Der amorphe Rückstand wurde in wenig Aceton gelöst und mit der gleichen Menge Äther versetzt, worauf bald Krystallisation eintrat. Die Krystalle wurden abgenutscht und mit Aceton und Äther gewaschen. Es wurden 48 mg vom Smp. 198—205° erhalten. Zur Analyse wurde aus Aceton durch Einengen umkrystallisiert. Es wurden beidseitig zugespitzte Stäbchen vom Smp. 210—211,5° erhalten. Die Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial schmolz bei 175—195°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz bei 80° getrocknet.

5,023 mg Subst. gaben 12,60 mg CO₂ und 3,86 mg H₂O
 C₂₄H₃₆O₆ (420,53) Ber. C 68,54 H 8,63%
 Gef. „ 68,46 „ 8,60%

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +100,2^0 \pm 2^0$ (c = 1,0773 in Dioxan).

10,908 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = +1,08^0 \pm 0,02^0$

b) Über die Cyclohexanonverbindung. 100 mg Tetrol (I) wurden in 75 cm³ frisch destilliertem Cyclohexanon gelöst, mit 2 g wasserfreiem Kupfersulfat versetzt und 20 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Dann wurde filtriert, mit etwas Äther nachgewaschen und das Filtrat noch 10 Minuten mit 1 g gepulverter Pottasche geschüttelt. Nach erneuter Filtration wurde im Vakuum eingedampft. Der syrupöse Rückstand (195 mg) wurde mit Äther verdünnt und eine flockige, braune Fällung durch Filtration entfernt. Beim Einengen der klaren Ätherlösung trat Krystallisation ein, die durch Zusatz

von etwas Pentan vervollständigt wurde. Die ausgeschiedenen Körner wurden mit Äther-Pentan gewaschen, sie schmolzen bei 195—198°. Durch Umkrystallisieren aus Benzol-Äther wurden 73 mg farbloser Nadeln vom Smp. 198,5—200° erhalten.

Zur Acetylierung wurden 60 mg davon in 0,6 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,4 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und zunächst 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann noch 3 Stunden auf 60° erwärmt. Die Aufarbeitung geschah wie bei der entsprechenden Acetonverbindung (III). Das sofort krystallisierende Rohprodukt wog 70 mg und schmolz bei etwa 220°. Durch Umkrystallisieren aus Benzol-Äther wurden farblose Blättchen erhalten, die bei 229—231° schmolzen unter teilweisem Übergang in grosse, sechseckige Platten, die sich bei 240—245° endgültig verflüssigten.

Zur Spaltung wurden 60 mg der acetylierten Cyclohexanonverbindung in einem Gemisch von 1,4 cm³ Eisessig und 0,6 cm³ Wasser 1½ Stunden auf 75° erwärmt. Die Aufarbeitung geschah wie nach der Spaltung der Acetonverbindung und gab dasselbe Tetrolmonoacetat-(20) (IV), das oben beschrieben ist.

Pregnen-(4)-diol-(17,20)-on-(3)-al-(21)-monoacetat-(20)
(V).

30 mg Monoacetat (IV) wurden in 3 cm³ reinstem und frisch über Natrium destilliertem Dioxan gelöst, mit der Lösung von 34 mg Perjodsäure in 0,6 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur in Kohlendioxyd-Atmosphäre stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur auf 1 cm³ eingengt, nochmals mit 3 cm³ Wasser versetzt und wiederum im Vakuum stark eingengt. Die dadurch entstandene Fällung wurde durch Ausschütteln mit frisch destilliertem Äther in Lösung gebracht, wofür ca. 100 cm³ nötig waren. Die Ätherauszüge wurden mit Wasser und etwas Kaliumbicarbonatlösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 28 mg Rohprodukt, das aus Aceton-Äther krystallisierte. Die mit Äther und Pentan gewaschenen Krystalle schmolzen bei 201—204°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 7 mg wolliger Nadelchen, die unter leichter Zersetzung bei 206—208° schmolzen. Aus den Mutterlaugen wurden noch 14 mg vom Smp. 202—205° erhalten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,702 mg Subst. gaben 12,225 mg CO₂ und 3,48 mg H₂O

C₂₃H₃₂O₅ (388,49) Ber. C 71,10 H 8,28%

Gef. „ 70,94 „ 8,28%

Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +119,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,9738$ in Dioxan).

9,86 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1,16^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

Die Substanz reduziert, in wenig Methanol gelöst, alkalische Silberdiammin-Lösung bei Zimmertemperatur, jedoch eher etwas langsamer als Corticosteron und ähnliche Stoffe. Mit 1,4-Dioxynaphtalin nach *Raudnitz* und *Puluj*¹⁾ wird eine starke Rotfärbung erhalten. Diese Reaktion fällt mit Desoxy-corticosteron und seinem Acetat negativ aus. Wird eine Probe der Substanz auf dem Objektträger mit wenig konz. Schwefelsäure befeuchtet, so entsteht eine in der Durchsicht braun-orange Lösung, die auf schwarzer Unterlage lebhaft grün fluoresziert.

Bei einer Wiederholung der ganzen Reaktionsfolge mit grösseren Substanzmengen wurde aus 1,2 g Tetrol (I) 0,6 g reiner Aldehyd (V) erhalten.

Semicarbazon. 10 mg Aldehyd (nicht ganz rein vom Smp. 202—205^o) wurden in 3 cm³ Dioxan gelöst und mit der Lösung von 30 mg Semicarbazid-chlorhydrat und 45 mg Natriumacetat 2 Minuten gekocht²⁾. Es trat keine feste Abscheidung, sondern nur leichte Gelbfärbung ein. Die Lösung wurde filtriert, im Vakuum stark eingengt und mit Wasser versetzt. Das flockig ausgefällte Produkt wurde abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Es liess sich nicht krystallisieren. Zur Reinigung wurde es in Methanol gelöst und die erneut filtrierte Lösung nach Zusatz von Wasser stark eingengt. Das als feines Pulver ausgefallene Material wurde abgenutscht, mit Wasser und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Beim Erwärmen färbte es sich von 190^o an braun und zersetzte sich ohne zu schmelzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 120^o getrocknet.

3,621 mg Subst. gaben 8,54 mg CO ₂ und 2,63 mg H ₂ O
3,216 mg Subst. gaben 0,363 cm ³ N ₂ (22,5 ^o ; 767 mm)
C ₂₄ H ₃₅ O ₅ N ₃ (445,55) Ber. C 64,68 H 7,92 N 9,43%
C ₂₅ H ₃₈ O ₅ N ₃ (502,61) Ber. „ 59,74 „ 7,62 „ 16,71%
Gef. „ 64,36 „ 8,13 „ 13,15%

Es handelt sich somit voraussichtlich um ein Gemisch.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. Schoeller, Berlin, ausgeführt.

Pharmaz. Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *H. Raudnitz, G. Puluj, B. 64, 2212 (1931)*. Über die Anwendbarkeit dieser Farb-reaktion bei verschiedenen Sterinderivaten vgl. besonders *K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz, Helv. 22, 894, insbesondere 902 (1939)*.

²⁾ Zur Methode vgl. *K. Miescher, F. Hunziker, A. Wettstein, Helv. 23, 400 (1940)*.