

131. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

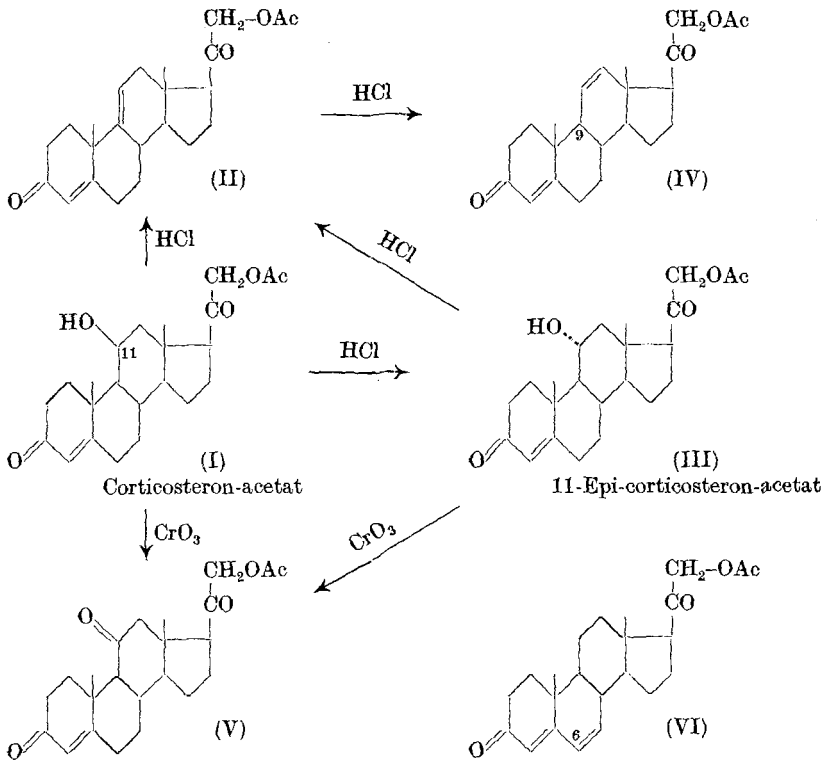
63. Mitteilung¹⁾).

11-Epi-corticosteron-acetat und zwei isomere Anhydro-corticosteron-acetate

von C. W. Shoppee²⁾ und T. Reichstein.

(4. VI. 43.)

Vor einiger Zeit wurde mitgeteilt, dass 11-Oxysteroide durch kurzes Erwärmen mit verdünnter Mineralsäure eine Anhydrierung erleiden³⁾⁴⁾. Diese Methode wurde nun auf Corticosteron-acetat (I) angewandt und der Reaktionsverlauf etwas eingehender untersucht. Es zeigte sich dabei, dass je nach den Bedingungen verschiedene Stoffe entstehen.



¹⁾ 62. Mitteilung, A. Lardon, T. Reichstein, Helv. **26**, 747 (1943).

²⁾ Rockefeller Research Fellow an der Universität Basel.

³⁾ C. W. Shoppee, Helv. **23**, 740 (1940).

⁴⁾ C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. **24**, 351 (1941).

Erhitzt man (I) $\frac{1}{2}$ Stunde in einem Gemisch von einem Teil konz. Salzsäure und 9 Teilen Eisessig zum Sieden, so lässt sich nach Reacetylierung ausser unverändertem Ausgangsmaterial (I) etwa 35—40%¹⁾ eines Anhydro-corticosteron-acetats vom Smp. 159° gewinnen, dem wir vorläufig die Formel (II) zuteilen. Obwohl die Konstitution nicht besonders bewiesen wurde, nehmen wir in Analogie mit früheren Befunden²⁾³⁾ an, dass keinerlei Umlagerungen eingetreten sind und dass diese Formel somit bis auf die Lage der neuen Doppelbindung richtig ist, während letztere vorläufig noch willkürlich plaziert ist⁴⁾. Als zweiter Stoff tritt in einer Ausbeute⁵⁾ von 5—10% ein Isomeres von (I) auf, das bei etwa 125° schmilzt. Dieser Stoff liefert bei der Oxydation mit Chromsäure dasselbe 11-Dehydro-corticosteron-acetat (V), das auch durch Oxydation von (I) erhalten wird⁶⁾, er kann sich von (I) somit nur durch Epimerie in 11-Stellung unterscheiden und besitzt daher Formel (III). Da die physikalischen und chemischen Eigenschaften von (I) und (III) ausserordentlich ähnlich sind und die beiden Stoffe bei der Mischprobe keine eindeutige Schmelzpunktserniedrigung geben, wurde zunächst sorgfältig geprüft, ob nicht etwa Krystallisomerie vorliegt. Dies ist aber nicht der Fall, denn die tiefer schmelzenden Krystalle von (III) lassen sich auch durch Impfen der unterkühlten Schmelze mit (I) nicht in dieses umwandeln. Ausserdem verhalten sich die beiden Stoffe auch bei der chromatographischen Trennung etwas verschieden, und schliesslich zeigen sie auch einen geringen, aber deutlichen Unterschied in der spez. Drehung.

	Smp.	$[\alpha]_D^{20}$ in Aceton	$[\alpha]_{5461}^{20}$ in Aceton
Corticosteron-acetat (I)	149°	+ 195° ± 3°	+ 236° ± 3°
11-Epi-corticosteron-acetat (III) . . .	125°	+ 187° ± 3°	+ 222° ± 4°

Ein ähnlich geringer Unterschied in der spez. Drehung wurde auch früher von *J. Barnett* und *T. Reichstein*⁷⁾ bei den zwei epimeren 11-Oxy-12-keto-cholansäure-methylestern gefunden⁸⁾.

1) Nach Abzug des zurückgewonnenen Ausgangsmaterials berechnet.

2) *C. W. Shoppee*, *Helv.* **23**, 740 (1940).

3) *C. W. Shoppee*, *T. Reichstein*, *Helv.* **24**, 351 (1941).

4) Begründung vgl. weiter unten.

5) Nach Abzug des zurückgewonnenen Ausgangsmaterials berechnet.

6) *T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 953 (1937).

7) *J. Barnett*, *T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 926 (1938).

8) Epimerie einer Hydroxylgruppe in 12-Stellung ergibt ebenfalls nur eine geringe Änderung der spez. Drehung, vgl. *B. Koechlin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **25**, 918 (1942). In diesem Falle zeigt die 12 β -Oxy-Verbindung eine etwa 9° höhere spez. Drehung als die 12 α -Oxy-Verbindung. Bei den entsprechenden Ätio-Säuren ist der Unterschied allerdings beträchtlich grösser, nämlich für die Methylester 67° (Zusammenstellung vgl. daselbst).

	Smp.	$[\alpha]_D^{25}$ in Methanol
11(β)-Ester . . .	106°	+ 58,5° ± 1°
11(α)-Ester . . .	73°	+ 54,6° ± 1°

Nimmt man an, dass optische Superpositionsregeln hier gültig sind, und will man die stärker rechtsdrehenden Verbindungen als 11(β)-Formen bezeichnen, so wäre das natürliche Corticosteron der 11(β)-Reihe zuzuordnen. Zur Sicherstellung sind hier aber noch weitere Modellsubstanzen zu untersuchen¹⁾.

Nahm man die Wasserabspaltung von (I) unter energischeren Bedingungen, nämlich durch halbstündiges Kochen in einem Gemisch von 2 Teilen konz. Salzsäure und 8 Teilen Eisessig vor, so wurde (III) nicht aufgefunden. Ausser wenig Ausgangsmaterial (I) wurde (II) sowie ein Isomeres desselben vom Smp. 142° erhalten, dem wir vorläufig die Formel (IV) zuordnen. Daneben entstand noch eine kleine Menge eines weiteren Stoffes vom Smp. 169°, dessen Menge aber zur Analyse nicht ausreichte; voraussichtlich handelt es sich um ein weiteres Isomeres von (II). Auch aus 11-Epi-corticosteron-acetat (III) wird bei analoger Behandlung mit Salzsäure-Eisessig (1 : 4) leicht Wasser abgespalten. Aus dem Reaktionsgemisch wurden wiederum die zwei obigen Stoffe (II) und (IV) isoliert. Die Verbindung (II) ist bei halbstündigem Kochen gegen Salzsäure-Eisessig (1 : 9) weitgehend beständig, während mit Salzsäure-Eisessig (1 : 4) teilweise Umlagerung in (IV) eintritt. Die zwei Isomeren (II) und (IV) lassen sich leicht voneinander unterscheiden und geben bei der Mischprobe eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Auch die spez. Drehung ist verschieden.

¹⁾ Erwünscht wäre besonders ein Paar raumisomerer 11-Oxy-Steroide, die in der Nähe dieser Hydroxylgruppe keine Substituenten enthalten. In der Literatur ist bisher nur ein solches beschrieben, nämlich die zwei 3-Keto-11-oxy-allo-ätio-cholansäuren (und ihre Methylster) von *H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie, E. C. Kendall*, J. Biol. Chem. **120**, 719 (1937), die diese Autoren als „Dihydro Acid 2“ und „Acid 1 D“ bezeichnen. Für „Dihydro Acid 2“, deren 11-ständige Hydroxylgruppe dieselbe räumliche Lage wie im Corticosteron aufweist und unter obiger Annahme als 3-Keto-11 β -oxy-ätio-allo-cholansäure zu bezeichnen wäre, fanden die genannten Autoren eine spez. Drehung von: $[\alpha]_{5461}^{25} = +100^\circ$ (in Äthanol). Für „Acid D“, die sich von obiger Säure nur durch Epimerie in 11-Stellung unterscheiden soll, wurde $[\alpha]_{5461}^{25} = +93^\circ$ (in Äthanol) gefunden. Obwohl diese Werte mit obiger Zuordnung der Raumformeln übereinstimmen würden, soll von ihrer Benützung vorläufig abgesehen werden, denn wir haben gute Gründe, anzunehmen, dass die Befunde *Kendall's* auf einem Irrtum beruhen und dass auch die 11-ständige Hydroxyl-Gruppe im Corticosteron α -ständig angeordnet ist, also umgekehrt wie dies hier, sowie in einem kürzlich erschienenen Sammelreferat (*T. Reichstein, C. W. Shoppee*: „The Hormones of the Adrenal Cortex“, „Vitamines and Hormones“, Vol. I, New-York 1942) formuliert wird. Über diese Frage wird später berichtet.

	Smp.	Spezifische Drehung in Aceton	
(II)	159°	$[\alpha]_D^{18} = +129^\circ \pm 2^\circ$	$[\alpha]_{5461}^{18} = +150^\circ \pm 2^\circ$
(IV)	143°	$[\alpha]_D^{15} = +98^\circ \pm 6^\circ$	$[\alpha]_{5461}^{15} = +130^\circ \pm 6^\circ$

Die Lage der neuen Doppelbindungen in den Formeln (II) und (IV) ist wie erwähnt vorläufig noch willkürlich und stützt sich lediglich auf Analogieschlüsse¹⁾. Sicher ist nur, dass sie bei der Säure-Behandlung nicht etwa bis in 6-Stellung gewandert ist (entsprechend Formel VI)²⁾, da beide Stoffe im U.V.-Absorptionsspektrum die für einfache α, β -ungesättigte Ketone charakteristische Lage des Maxi-

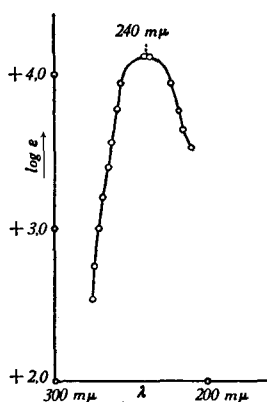


Fig. 1.

1,55 mg Anhydro-corticosteron-acetat
(II) vom Smp. 159° in 10 cm³ Alkohol
($c = 0,00042$ -molar).

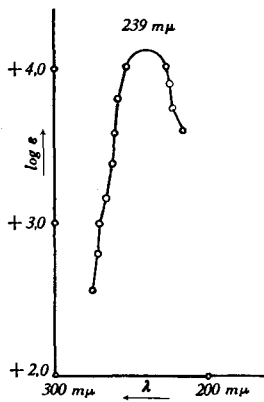


Fig. 2.

1,72 mg Anhydro-corticosteron-acetat
(IV) vom Smp. 142° in 30 cm³ Alkohol
($c = 0,000155$ -molar).

¹⁾ So liefert 11 α -Oxy-cholansäure beim Kochen mit Salzsäure in Eisessig vorwiegend Cholen-(9)-säure und wenig Cholen-(11)-säure. Die in 9,11-Stellung ungesättigte Säure entsteht unter milden Bedingungen sogar ausschliesslich (*H. Reich, T. Reichstein, Helv. 26, 562 (1943)*). Ähnlich verhält sich die 3-Acetoxy-11-oxy-cholansäure (*E. Seebek, T. Reichstein, Helv. 26, 536 (1943)*). Es ist daher naheliegend, anzunehmen, dass das in grösserer Menge und unter milderen Bedingungen gebildete Isomere (II) die Doppelbindung in 9,11-Stellung enthält. Aus denselben Gründen ist es wahrscheinlich, dass die früher aus 11-Oxy-androstan-dion-(3,17) und 11-Oxy-progesteron erhaltenen ungesättigten Stoffe (*C. W. Shoppee, Helv. 23, 740 (1940); 24, 351 (1941)*) die Doppelbindung ebenfalls in 9,11-Stellung enthalten und nicht wie ursprünglich formuliert in 11,12-Stellung. Für das aus 11-Oxy-progesteron entstehende Dehydro-progesteron wurde die Unrichtigkeit der ursprünglichen Formulierung inzwischen bewiesen (*P. Hegner, T. Reichstein, Helv. 26, 715 (1943)*).

²⁾ Die Tatsache, dass keiner der beiden Stoffe (II) und (IV) mit dem von *A. Wettstein, Helv. 23, 388 (1940)* beschriebenen 6-Dehydro-desoxy-corticosteron-acetat (VI) vom Smp. 115° identisch ist, ist allein kein Gegenbeweis, denn während der Wanderung der Doppelbindung hätte Isomerisierung in 8- und 9-Stellung stattfinden können.

mums zeigen (vgl. Kurven)¹). Die Verbindung (VI)² zeigt dagegen ein Maximum bei etwa 283 m μ , ähnlich wie Androstadien-(4,6)-dion-(3,17)³).

Vom chemischen Standpunkt ist die Epimerisierung von (I) zu (III) unter relativ sehr milden Bedingungen bemerkenswert. Wir nahmen zuerst an, es könnte dieser Vorgang auf intermediärer Anhydrierung zu (II) und Wiederanlagerung von Wasser beruhen. Dies ist aber offenbar nicht der Fall, denn ein entsprechender Versuch verlief negativ; (II) blieb beim Kochen mit der Salzsäure-Eisessig-Mischung (1 : 10) unverändert, und es konnte nach der Behandlung weder (I) noch (III) nachgewiesen werden. Erst mit dem Säuregemisch (1 : 4) trat teilweise Umsetzung zu (IV) ein, wiederum ohne dass Spuren von (I) oder (III) zu finden gewesen wären. Es dürfte sich somit um eine direkte Epimerisierung unter dem Einfluss der Wasserstoffionen handeln. Aus diesen Versuchen folgt weiter, dass (IV) nicht direkt aus (I), sondern über (II) entsteht.

Biologische Prüfung⁴). Biologisch konnte von den neuen Stoffen bisher (II) sowie ganz provisorisch auch (IV) geprüft werden. Die Prüfung im *Everse-de Fremery-Test*⁵) wurde gleichzeitig mit Desoxy-corticosteron-acetat als Standard ausgeführt, da die absoluten Werte der minimalen, täglich benötigten Hormondosen je nach der Jahreszeit und anderen Grundbedingungen verschieden sind⁶). Über das Resultat mit (II) orientieren die beiden folgenden Tabellen.

Aus nachfolgender Tabelle geht hervor, dass (II) im *Everse-de Fremery-Test* etwa 2—3 mal stärker wirksam ist als Desoxy-corticosteron-acetat und somit die in diesem Test bisher stärkste wirksame Substanz überhaupt darstellt. Ausserdem wurden diese zwei Stoffe noch im Überlebenstest an adrenaletomierten, jungen Ratten vergleichend geprüft, wobei die täglichen Injektionen während längerer Zeit (20 bis 34 Tage) fortgesetzt wurden. Nimmt man die mittlere Überlebensdauer, sowie die Gewichtszunahme als Kriterium, so zeigt es sich, dass (II) in diesem Test ungefähr gleich oder wenig stärker wirksam ist als Desoxy-corticosteron-acetat.

¹) Wir verdanken die Messung Herrn P.D. Dr. H. Mohler, Zürich.

²) A. Wettstein, Helv. **23**, 388 (1940).

³) L. Ruzicka, W. Bosshard, Helv. **20**, 328 (1937).

⁴) Die Prüfung wurde im Laboratorium der N. V. Organon, Oss (Holland) ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

⁵) Acta Brev. Neerl. **2**, 152 (1932); vgl. *Abderhalden*, Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, Abt. **V**, Teil 3B, 1382 (1938).

⁶) Während als tägliche Menge im November 1940 bereits 45 γ Desoxy-corticosteron-acetat ausreichten, sind zu anderen Zeiten auch schon 80 γ und mehr für ein positives Resultat nötig gewesen.

Vergleich der Wirksamkeit der beiden Anhydro-corticosteron-acetate (II, Smp. 159^o) und (IV, Smp. 142^o) mit Desoxy-corticosteron-acetat im *Everse-de Fremery-Test*.

Datum	Zahl der Ratten	Tägliche Dosis in mg ¹)	Präparat	Anzahl der pos.re-agier. Tiere	Ergebnis
Nov. 1940 . .	5	0,005	(II) (Smp. 159 ^o)	0	—
Okt.–Nov. 1940	11	0,015	„	6	+
Dez. 1940 . .	10	0,025	„	6	+
Nov. 1940 . .	9	0,030	„	7	+
Okt. 1940 . .	6	0,060	„	5	+
Sept. 1940 . .	6	0,300	„	6	+
Nov. 1940 . .	4	0,015	Desoxy-corticosteronacetat	0	—
Nov. 1940 . .	12	0,045	„ „	7	+
Sept. 1940 . .	9	0,075	„ „	2	—
Nov. 1940 . .	14	0,075	„ „	13	+
Dez. 1940 . .	10	0,075	„ „	8	+
Okt. 1940 . .	10	0,150	„ „	7	+
März 1941 . .	7	0,100	(IV) (Smp. 142 ^o)	3	—
Juni 1941 . .	11	0,040	Desoxy-corticosteron-acetat	3	—
„ „ . .	13	0,075	„ „	9	+
„ „ . .	6	0,150 ²)	(IV) (Smp. 142 ^o)	2	—

Hingegen ergab die orientierende Prüfung des isomeren Anhydro-corticosteron-acetats (IV) vom Smp. 142^o im *Everse-de Fremery-Test*, dass dieser Stoff unter den genannten Versuchsbedingungen mindestens 2—3mal schwächer wirksam ist als Desoxy-corticosteron-acetat. Für eine positive Wirkung waren 150 γ täglich nicht ausreichend, grössere Dosen konnten wegen Materialmangel nicht verabfolgt werden.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.)

Anhydrierung von Corticosteron-acetat (I) mit Salzsäure-Eisessig (1:9).

200 mg Corticosteron-acetat (Smp. 147,5—148,5^o) wurden mit 1,5 cm³ einer Mischung von 90 Raumteilen Eisessig und 10 Raumteilen konz. wässriger Salzsäure 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum vollständig eingedampft und der Rückstand

¹) In Arachisöl gelöst und in zwei halben Dosen unterteilt zweimal täglich injiziert.

²) Die letzte Einspritzung musste bei diesen 6 Tieren unterbleiben, so dass jedes total nur 0,525 mg statt 0,600 mg in den 4 Tagen erhielt. Die Prüfung wurde 5 Stunden nach der letzten Injektion vorgenommen.

zur Reacetylierung mit 0,8 cm³ reinstem Essigsäure-anhydrid und 1,0 cm³ absolutem Pyridin 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Hierauf wurde wieder im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther-Chloroform gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und vollständig eingedampft. Nach Trocknen im Vakuum wurde das Produkt (200 mg) in 1,5 cm³ Benzol gelöst, stark mit Pentan verdünnt und durch eine mit Pentan bereitete Säule von 6 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert. Nach Durchwaschen mit je 25 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel wurde jedes Filtrat für sich eingedampft und der Rückstand durch Zugabe einiger Tropfen geeigneter Lösungsmittel nach Möglichkeit zur Krystallisation gebracht. Vor den Schmelzpunktsbestimmungen wurden die Krystalle gewaschen (Fraktionen 5—8 mit Äther, Äther-Pentan und Pentan; Fraktionen 9—12 mit Pentan; Fraktionen 16—19 mit Aceton-Äther (1 : 1), Äther und Pentan).

Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	Smp.
1, 2	Pentan	—	
3, 4	Benzol-Pentan (1 : 1) . .	—	
5	absolutes Benzol	viel Kryst. spont. aus Äther	148—154°
6	„ „	„ „ „ „ „	148—155°
7	Benzol + 1% Äther. . .	„ „ „ „ „	146—154°
8	„ + 1% „	„ „ „ „ „	142—151°
9	„ + 1% „	wenig Kryst. aus Äther-Pentan	100—110°
10	„ + 1% „	„ „ „ „ „	106—110°
11	„ + 2% „	„ „ „ „ „	ca. 100°
12	„ + 2% „	„ „ „ „ „	95—100°
13	„ + 5% „	Spur Öl	
14	„ + 10% „	„	
15	„ + 20% „	„	
16	„ + 30% „	Spur Krystalle beim Stehen	
17	„ + 50% „	„ „ „ „	
18	absoluter Äther	„ „ „ „	
19	Aceton-Äther (1 : 1) . . .	viel Nadeln aus Aceton-Äther	143°
20	Aceton	Spur Öl	
21	„	„ „	

Anhydro-corticosteron-acetat (II) vom Smp. 159°. Das neue Anhydroprodukt (II) fand sich in den Fraktionen 5—8¹⁾. Diese wurden vereinigt (56 mg) und aus Aceton-Äther umkrystallisiert. Nach Waschen mit Äther und Pentan wurden 45 mg lange, dünne

¹⁾ Aus Fraktion 6 wurde neben den Nadeln ein kleines Büschel viereckiger Platten vom Smp. 162—168° erhalten. Dieses wurde herausgenommen und für sich aus Aceton-Äther umkrystallisiert. So wurden etwa 1 mg Krystalle vom Smp. 169—171° erhalten.

Prismen vom Smp. 153—154° erhalten, die an der Luft opak wurden. Nochmaliges Umkrystallisieren brachte den Schmelzpunkt auf 159 bis 160°, der sich bei weiterem Umkrystallisieren nicht mehr änderte¹⁾. Die Mischprobe mit Corticosteron-acetat gab eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Die Substanz gab in möglichst wenig Chloroform gelöst auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung (Corticosteron-acetat gibt keine Färbung). Sie reduzierte, in wenig Methanol gelöst, alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur rasch und stark. Beim Anfeuchten mit konz. Schwefelsäure gibt sie eine orange-gelbe Lösung, die auf dunkler Unterlage beobachtet stark grün fluoresziert²⁾. Das U.V.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +129^{\circ} \pm 2^{\circ}$; $[\alpha]_{5461}^{18} = +150^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9515$ in Aceton). 9,633 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{18} = +1,23^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $\alpha_{5461}^{18} = +1,43^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,070 mg Subst. gaben 8,400 mg CO ₂ und 2,28 mg H ₂ O		
C ₂₃ H ₃₀ O ₄ (370,47)	Ber. C 74,56	H 8,16%
	Gef. „ 74,67	„ 8,31%

11-Epi-corticosteron-acetat (III). Die Fraktionen 9—13 enthielten ebenfalls einen neuen Stoff. Da sie zusammen nur 10 mg wogen, wurden sie mit entsprechenden Fraktionen aus einem späteren Ansatz vereinigt und zusammen zweimal aus Essigester-Pentan umkrystallisiert. Der Stoff zeigt dabei Neigung, sich als Gallerte abzuschneiden, wenn das Pentan nicht ganz allmählich zugefügt wird. Es wurden Drusen von glänzenden Platten erhalten, die mit Essigester-Äther (1 : 10), Äther und Pentan gewaschen wurden. Sie schmolzen bei 122—125°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,317 mg Subst. gaben 8,650 mg CO ₂ und 2,490 mg H ₂ O		
C ₂₃ H ₃₂ O ₅ (388,48)	Ber. C 71,11	H 8,30%
	Gef. „ 71,17	„ 8,40%

Der Stoff ist also mit Corticosteron-acetat isomer, jedoch liegt keine Krystallisomerie vor, was schon aus dem gänzlich verschiedenen Verhalten bei der Chromatographie folgt. Aber auch durch Impfen der übersättigten Lösung mit Corticosteron-acetat liess sich eine Umwandlung nicht erzielen. Bei den folgenden Reaktionen verhält sich der neue Stoff wie Corticosteron-acetat. In wenig Chloroform gelöst, wird mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung erhalten. In wenig Methanol gelöst, tritt nach Zusatz alkalischer Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur sehr rasch Schwarzfärbung ein. Anfeuchten mit konz. Schwefelsäure gibt eine orange Lösung, die

¹⁾ Aus viel Äther durch Einengen wurden sehr schön ausgebildete, klare Prismen erhalten, die an der Luft nicht opak wurden.

²⁾ Vgl. O. Wintersteiner, J. J. Piffner, J. Biol. Chem. **116**, 291 (1936).

lebhaft grün fluoresziert¹⁾. Die Mischprobe mit Corticosteron-acetat (Smp. 148°) schmolz bei 136—140°, zeigte also keine Schmelzpunkts-erniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +187^\circ \pm 4^\circ$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +222^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,487$ in Aceton).

4,933 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,91^\circ \pm 0,02^\circ$; $\alpha_{5461}^{20} = +1,08^\circ \pm 0,02^\circ$.

Da die spez. Drehung von Corticosteron-acetat bisher noch nicht beschrieben war, wurde zum Vergleich eine Messung mit einer reinsten Probe vom Smp. 147,5—148,5° durchgeführt. Gefunden wurde: $[\alpha]_D^{20} = +195^\circ \pm 3^\circ$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +236^\circ \pm 3^\circ$; ($c = 0,965$ in Aceton).

9,767 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +1,88^\circ \pm 0,03^\circ$; $\alpha_{5461}^{20} = +2,28^\circ \pm 0,03^\circ$.

Das 11-Epi-corticosteron-acetat (III) zeigt also eine recht ähnliche, aber doch etwas geringere Drehung als Corticosteron-acetat (I), was besonders beim Vergleich der Werte für grünes Hg-Licht deutlich wird.

Die Fraktionen 16—19 wogen zusammen 43 mg, sie bestanden aus Corticosteron-acetat und wurden für eine neue Wasserabspaltung benützt. Ein zweiter Ansatz mit 200 mg (I) gab: 29 mg (II), 14 mg (III) und 94 mg Ausgangsmaterial (I) zurück.

Anhydrierung von Corticosteron-acetat mit Salzsäure-Eisessig (1:4).

97 mg Corticosteron-acetat wurden mit 1 cm³ einer Mischung von 8 Raumteilen Eisessig und 2 Raumteilen konz. wässriger Salzsäure 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung und Reacetylierung geschah wie beim obigen Versuch. Anschliessend wurde wieder über Aluminiumoxyd (3 g) chromatographiert. Es wurde mit je 10 cm³ der in der Tabelle (S. 1325) genannten Lösungsmittel nachgewaschen. Alle Schmelzpunkte sind nach Waschen der Krystalle mit Äther und Pentan bestimmt worden (ausser bei Nr. 15).

Durch die Chromatographie ist also nur eine teilweise Trennung erreicht worden. Nach sorgfältiger, fraktionierter Krystallisation aus Aceton-Äther oder Äther allein wurden erhalten:

Aus Nr. 3, 4, 6: 8,5 mg haarfeine Nadeln vom Smp. 139—142° (IV)
eine grosse, flache Platte vom Smp. 168—170° (?)

Aus Nr. 5, 7, 8: 2,5 mg fast reines (II), Smp. 157° (Prismen)
3,5 mg reines (IV), Smp. 142° (haarfeine Nadeln)

Aus Nr. 9—12: 21 mg reines (II), Smp. 157,5—158,5° (Prismen).

Aus den Mutterlaugen wurden noch kleine Mengen von beiden Stoffen (II) und (IV) zusammen mit einigen dünnen Platten vom Smp. 162—169° erhalten. Die Totalausbeute betrug 23,5 mg reines (II) (= 26%), 14 mg reines (IV) (= 17%), etwa 1 mg der Substanz vom Smp. 169°, sowie 15 mg teilweise krystallisierte Reste. 11 mg (I) wurden zurückerhalten.

¹⁾ O. Wintersteiner, J. J. Piffner, J. Biol. Chem., **116**, 291 (1936). Vgl. T. Reichstein, Helv. **20**, 957, 965 (1937).

Nr.	Lösungsmittel	Rückstand		Smp.
1	Pentan	—		
2	Benzol-Pentan (1:1)	Spur Öl		
3	„ „ „	Spur Kryst. nach Impfen mit Fraktion 4	Nadeln	140—142°
4	„ „ „	Kryst. spontan aus Äther	„	139—142°
5	„ „ „	„ „ „ „	Prismen	154—157°
6	„ „ „	Kryst. nach Impfen mit Frakt. 4	Nadeln	142—143°
7	„ „ „	Kryst. spontan aus Äther	Prismen	153—157°
8	„ „ „	wenig Kryst. spontan aus Äther	„	154—157°
9	absolutes Benzol . .	Viel Krystalle aus Äther	Nadeln u. Prismen	{142—143° u. 156—159°
10	„ „ . .	„ „ „ „	do.	do.
11	„ „ . .	weniger Kryst. aus Äther	do.	{141—142° u. 156—158°
12	„ „ . .	wenig „ „ „	do.	{141—143° u. 154—158°
13	„ „ . .	Spur „ „ „	Prismen	153—156°
14	do. + 2% Äther	wenig „ „ „	„	153—156°
15	do. + 2% do.	Spur „ „ „	„	153—156°
16	do. + 10% do.	„ Öl, kryst. nicht		
17	do. + 50% do.	„ „ „ „		—
18	absol. Äther	„ „ „ „		—
19	Aceton-Äther	Kryst. aus Aceton-Äther nach Impfen mit (I)		unscharf
20	„ „	—		—

Anhydro-corticosteron-acetat (IV) vom Smp. 142°. Das Produkt krystallisierte aus Äther durch Einengen in äusserst feinen, farblosen Nadeln vom Smp. 142—143°. Die Mischprobe mit (II) schmolz bei 138—142°, gab also keine eindeutige Schmelzpunkts-erniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +98^\circ \pm 6^\circ$; $[\alpha]_{5461}^{15} = +130^\circ \pm 6^\circ$ (c = 0,3368 in Aceton).

3,411 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{15} = +0,33^\circ \pm 0,02^\circ$; $\alpha_{5461}^{15} = +0,44^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

2,428 mg Subst. gaben 6,600 mg CO₂ und 1,780 mg H₂O

C₂₃H₃₀O₄ (370,47) Ber. C 74,56 H 8,16%

Gef. „ 74,20 „ 8,20%

Die Substanz gibt in möglichst wenig Chloroform gelöst auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. In wenig Methanol gelöst, reduziert sie alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur rasch und stark. Mit konz. Schwefelsäure wurde eine starke grüne Fluoreszenzreaktion beobachtet. Das Spektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

Hydratisierungsversuch von Anhydro-corticosteron-acetat (II) vom Smp. 159° mit Salzsäure-Eisessig (1:9).

20 mg Anhydro-corticosteron-acetat (II) wurden mit 0,5 cm³ einer Mischung von 1 Teil konz. Salzsäure und 9 Teilen Eisessig ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach der wie oben durchgeführten Aufarbeitung und Reacetylierung wurde das Rohprodukt (19 mg) über 0,6 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Es wurde lediglich unverändertes Ausgangsmaterial zurückerhalten, von dem 15 mg in sehr reinen Krystallen vom Smp. 159—160° gewonnen wurden. Die Fraktionen, in denen (I) oder (III) hätten anwesend sein können, waren sehr gering, und es gelang auch durch Impfen nicht, einen dieser beiden Stoffe daraus zu erhalten.

Umlagerung von Anhydro-corticosteron-acetat (II) vom Smp. 159° mit Salzsäure-Eisessig (1:4).

15 mg Anhydro-corticosteron-acetat (II) wurden mit 0,5 cm³ einer Mischung von 2 Teilen konz. Salzsäure und 8 Teilen Eisessig ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach der wie oben durchgeführten Aufarbeitung und Reacetylierung wurde das Rohprodukt (14 mg) über 0,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert und anschließend durch fraktionierte Krystallisation weiter getrennt. Erhalten wurden 3 mg Ausgangsprodukt vom Smp. 159° sowie 7 mg des Isomeren (IV) vom Smp. 142°. Wiederum konnten weder (I) noch (III) aufgefunden werden.

Dehydratisierung von 11-Epi-corticosteron-acetat (III) mit Salzsäure-Eisessig (1:4).

18 mg 11-Epi-corticosteron-acetat (III) (es musste ein nicht ganz reines Produkt vom Smp. 118—122° verwendet werden) wurden mit 0,5 cm³ einer Mischung von 2 Raumteilen konz. Salzsäure und 8 Raumteilen Eisessig ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach der wie oben durchgeführten Aufarbeitung und Reacetylierung wurde das Rohprodukt (18 mg) über eine Säule von 0,6 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Es wurde mit je 2 cm³ der in der Tabelle (S. 1327) genannten Lösungsmittel nachgewaschen und jede Fraktion für sich eingedampft.

Die Fraktionen 6, 7 und 8 wurden vereinigt, in absolutem Äther gelöst und rasch auf ein kleines Volumen eingengt. Beim Stehen schieden sich bald 5 mg äusserst feine, zu Drusen vereinigte Nadeln aus, die bei 141—143° schmolzen. Die Mischprobe mit dem oben beschriebenen Produkt (IV) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Fraktionen 9, 10 und 11 gaben durch Umkrystallisieren aus Äther 2 mg farbloser Prismen vom Smp. 158—159°. Die Mischprobe mit (II) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Unveränderte Ausgangssubstanz (III) konnte hier nicht mehr aufgefunden werden.

Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	Smp.
1	Pentan		
2	„		
3	„		
4	Benzol-Pentan (1:1) . .	—	
5	„ „	—	
6	abs. Benzol	viel haarfeine Nadeln aus Äther	140—142°
7	„ „	„ „ „ „ „	140—142°
8	„ „	wenig „ „ „ „	140—142°
9	„ „	sehr wenig dicke Prismen aus Äther	158—159,5°
10	„ „	do. do.	156—158°
11	„ „	do. do.	154—158°
12	„ „ + 2% Äther	do. do.	152—157°
13	„ „ + „	—	
14	„ „ + 10% „	Spur Öl, kristallisiert nicht	
15	„ „ + „	—	
16	„ Äther	Spur Öl, kristallisiert nicht	
17	Aceton-Äther (1:1) . .	—	

Dehydro-corticosteron-acetat (V) aus 11-Epi-corticosteron-acetat (III).

15 mg 11-Epi-corticosteron-acetat (III) (es musste eine nicht ganz reine Probe vom Smp. 118—120° verwendet werden) wurden in 0,4 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,4 cm³ einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 8 mg CrO₃) versetzt und 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur stark eingengt, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft (aus den Sodaauszügen wurden keine sauren Anteile erhalten). Der neutrale Rückstand wurde in absolutem Benzol gelöst und über eine Säule von 0,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt. Kleine Substanzmengen wurden mit Benzol-Äther-Gemischen (9:1) und (4:1) eluiert, die Hauptmenge jedoch mit Benzol-Äther (1:1). Die späteren Eluate (reiner Äther und Aceton) gaben nur Spuren öliger Produkte.

Die genannten reinen Fraktionen gaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 4,5 mg zu Drusen vereinigter, farbloser Nadeln vom Smp. 178—181,5°. Eine bei 178,5—181,5° schmelzende authentische Probe¹⁾ gab beim Mischschmelzpunkt keine Er-

¹⁾ Diese vor etwa zwei Jahren durch Chromatographie bereitete, sehr reine Probe hatte seinerzeit bei 181—182° geschmolzen. Sie war nicht im Vakuum eingeschmolzen aufbewahrt worden und schmolz jetzt bei 165—175°. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther brachte den Schmelzpunkt auf 178,5—181,5°. Dies zeigt erneut, dass ungesättigte Ketone vom Progesteron-typus vor Luft geschützt aufbewahrt werden müssen, besonders wenn sie kleinkristallin sind.

niedrigung. Auch die äussere Krystallform war genau gleich, und das Produkt gab mit konz. Schwefelsäure keine grüne Fluoreszenzreaktion¹⁾. Schliesslich wurden auch noch die spez. Drehungen beider Proben bestimmt und innerhalb der Fehlergrenze eine gute Übereinstimmung gefunden. Die aus (III) bereitete Probe zeigte: $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = +215^{\circ} \pm 8^{\circ}$; $[\alpha]_{5461}^{16} = +266^{\circ} \pm 8^{\circ}$ ($c = 0,2337$ in Aceton).

2,355 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{16} = +0,50^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $\alpha_{5461}^{16} = +0,62^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die authentische Probe vom Smp. 178,5—181,5⁰ zeigte: $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = +214,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$; $[\alpha]_{5461}^{16} = +263^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,091$ in Aceton).

11,043 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{16} = +2,34^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$;

$\alpha_{5461}^{16} = +2,87^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

132. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

64. Mitteilung²⁾.

Konfigurative Verknüpfung einiger 17 β -Oxy-pregnanderivate mit Glycerin-gruppierung an der Seitenkette

von B. Koechlin und T. Reichstein.

(12. VI. 43.)

Allo-pregnan-tetrol-(3 β , 17 β , 20 β , 21)³⁾ (III) wurde zuerst aus Nebennieren isoliert⁴⁾ und als „Substanz K“ bezeichnet. Es liess sich auch durch Hydrierung von (II) („Substanz P“ gewinnen⁵⁾, wobei gleichzeitig ein in 20-Stellung raumisomeres Tetrol (IV) entstand. Von *Serini* und Mitarbeitern⁶⁾ wurde (III) ferner teilsynthetisch durch Hydroxylierung von Allopregnen-(17)-diol-(3 β , 21)-diacetat (I) mit Osmiumtetroxyd nach *Criegee*⁷⁾ bereitet. Obwohl bei dieser Reaktion theoretisch vier raumisomere Tetrole entstehen können, liess sich nur das erwähnte (III) fassen, das offenbar in überwiegender Menge gebildet wird. Dieser Weg, der in die sonst schwer zugängliche 17 β -Oxypregnanreihe führt, wurde inzwischen auch für die Bereitung

1) O. Wintersteiner, J. J. Pflücker, J. Biol. Chem. **116**, 291 (1936). Vgl. T. Reichstein, Helv. **20**, 960 (1937).

2) 63. Mitteilung, vgl. C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. **26**, 1316 (1943).

3) Zur Nomenklatur vgl. D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. **23**, 1490 (1940).

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

5) T. Reichstein, K. Gätzi, Helv. **21**, 1185 (1938).

6) A. Serini, W. Logemann, W. Hildebrand, B. **72**, 392 (1939).

7) R. Criegee, A. **522**, 75 (1936); Angew. Ch. **51**, 519 (1938).