

Acetylierung von Desacetyl-diabolin II: Die Acetylierung des Desacetyl-diabolins II verlief wie diejenige des Desacetyl-diabolins I; es resultierte das gleiche, nichtkristallisierende Produkt. Das IR.-Spektrum dieser Acetylbase zeigte die für die O-, bzw. N-Acetylgruppe charakteristische CO-Bande bei 5,73, bzw. 6,02  $\mu$ . Eine Acetylbestimmung am amorphen Produkt bestätigte das Vorhandensein zweier Acetylgruppen. Das Pikrat wurde gleich wie dasjenige des Desacetyl-diabolins I dargestellt. Es hatte denselben Smp. 225—228°; der Misch-Smp. zeigte keine Depression.

$C_{23}H_{28}O_4N_2$  Ber. Acetyl (2) 21,72% Gef. Acetyl 24,4%  
(getrocknet im H.V. über Nacht bei Zimmertemperatur)

$C_{23}H_{28}O_4N_2, C_6H_5O_7N_3$  Ber. Acetyl (2) 13,34% Gef. Acetyl 13,62%

Alle Smp. wurden auf dem Kupferblock bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Analysen wurden vom Mikrolabor der CIBA AG. (Leitung Dr. H. Gysel) und vom Mikroanalytischen Laboratorium Brugg (A. Peisker) ausgeführt. Die UV.-Spektren wurden auf einem Beckman-Quarz-Spektrophotometer, Modell DU (Dr. H. Gysel), und die IR.-Spektren auf einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer, Modell 21 (Fr. R. Schenker/Labor Dr. E. Ganz, CIBA AG.) aufgenommen. Für alle diese Untersuchungen, wie für die Aufnahme und Interpretation der Debye-Scherrer-Aufnahme durch Dr. E. Ganz (CIBA AG.), danken wir bestens.

Der CIBA-Stiftung sind wir für die Gewährung finanzieller Mittel und Herrn R. Endres (CIBA AG.) für technische Hilfe bei den Extraktionen sehr dankbar.

### Zusammenfassung.

Das Alkaloid Diabolin,  $C_{21}H_{26}O_3N_2$ , aus *Strychnos diabolis Sandwith*, konnte als N-Acetyl-indolin-Alkaloid charakterisiert werden. Es wurden zwei polymorphe Formen des durch saure Hydrolyse aus Diabolin gewonnenen Desacetyl-diabolins beschrieben.

Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.

## 158. Isolierung von 3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -Trioxy-pregnanon-(11) aus pathologischem menschlichem Harn.

Steroide, 7. Mitteilung<sup>1)2)</sup>

von M. Finkelstein, J. v. Euw und T. Reichstein.

(1. VII. 53.)

Die östrogenen Hormone geben mit geeigneten Säuren ( $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$  usw.) stark fluoreszierende Lösungen. Diese Tatsache kann zur Bestimmung solcher Hormone im Harn verwendet werden<sup>3)</sup>. Die

<sup>1)</sup> 6. Mitt.: A. Ruff & T. Reichstein, Helv. **34**, 70 (1951).

<sup>2)</sup> Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

<sup>3)</sup> M. Finkelstein, S. Hestrin & W. Koch, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **64**, 64 (1947). — J. W. Jailer, J. Clin. Endocrinol. **8**, 564 (1948). — E. J. Umberger & J. M. Curtis, J. Biol. Chem. **178**, 275 (1949). — G. A. Groves & M. J. Huston, J. Am. Pharm. Assn. **39**, 280 (1950). — R. W. Bates & H. Cohen, Endocrinology **47**, 166, 182 (1950). — L. L. Engel, W. R. Slaunwhite Jr., P. Carter & J. T. Nathanson, J. Biol. Chem. **185**, 255 (1950). — W. R. Slaunwhite Jr., L. L. Engel, J. F. Scott & C. L. Ham, Federation Proc. **11**, 288 (1952). — J. W. Goldzieher, J. M. Bodenchuk & P. Nolan, J. Biol. Chem. **199**, 621 (1952). — W. R. Slaunwhite Jr., L. L. Engel, J. F. Scott & C. L. Ham, J. Biol. Chem. **201**, 615 (1953).

fluorometrische Bestimmung von Östriol im Harn gesunder Männer und Frauen gab jedoch merklich höhere Werte als die biologische Bestimmung<sup>1)</sup>. Dies deutete darauf hin, dass solcher Harn noch eine andere fluorogene Substanz enthielt. Der Gehalt solcher Harnproben war jedoch nicht hoch genug, um eine präparative Trennung von Östriol zu ermöglichen. – Einen besonders hohen Gehalt an solchem fluorogenen Material, das nicht mit Östriol identisch war, zeigten zwei Fälle von weibl. Pseudohermaphroditen<sup>2)3)</sup>, Schwangerenharn<sup>3)</sup>, insbesondere solcher aus den letzten Monaten der Schwangerschaft, und ein Fall eines bösartigen Arrhenoblastomas<sup>3)</sup>. In diesen Fällen gelang die Trennung vom Östriol mit verd. Lauge, wobei das nicht östrogene fluorogene Material in den Neutralteilen verblieb<sup>2)3)4)</sup>.

Hier wird die Isolierung und die Konstitutionsaufklärung eines neutralen Steroids aus dem Harn der zwei genannten weibl. Pseudohermaphroditen beschrieben, das für die Fluoreszenz des Neutralteils weitgehend verantwortlich ist. – Ob derselbe Stoff auch im Schwangerenharn enthalten ist, muss eine besondere Untersuchung zeigen.

Ausgangsmaterial: Für die Untersuchung dienten 100 Liter Harn der zwei genannten Patienten. Der Harn wurde nach der früher beschriebenen Methode<sup>2)3)</sup> hydrolysiert und extrahiert. Auch die weitere Anreicherung durch Waschen mit verd. NaOH sowie Verteilung zwischen geeigneten Lösungsmitteln wurde gleich ausgeführt (Einzelheiten siehe exp. Teil). Es resultierten dabei 2,005 g Konzentrat (Neutralfraktion), die für die folgende Untersuchung dienten.

Trennung: Aus obigem Konzentrat liessen sich durch direkte Kristallisation aus Methanol-Äther, dann aus Dioxan-Aceton 28 mg eines Kristallisats (Nr. 837) abtrennen.

Die Mutterlaugen (1,93 g) wurden acetyliert und das Gemisch der Acetate (2,4 g) an  $Al_2O_3$  chromatographiert, worauf sich aus den leicht eluierbaren Anteilen durch fraktionierte Kristallisation zwei reine Acetate Nr. 812 (237 mg) und Nr. 836 (54 mg) isolieren liessen. Die Kontrolle ergab, dass Acetat Nr. 812 (und das daraus durch Verseifung leicht erhältliche freie Steroid Nr. 838) mit  $H_3PO_4$  eine sehr starke Fluoreszenz liefert. Es zeigte sich auch, dass die isolierte Menge an Kristallen ungefähr für 35% der im rohen Konzentrat gefundenen Fluoreszenz verantwortlich war. Obwohl in den relativ grossen Mengen von amorphen Fraktionen sicherlich noch weitere Steroide enthalten waren, wurde dieses Material nicht weiter untersucht, da hier nur die fluorogene Substanz interessierte.

<sup>1)</sup> *M. Finkelstein*, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. **69**, 181 (1948); Acta Endocrinol. **10**, 149 (1952).

<sup>2)</sup> *B. Zondek & M. Finkelstein*, Nature **168**, 831 (1951).

<sup>3)</sup> *B. Zondek & M. Finkelstein*, Acta Endocrinol. **11**, 297 (1952).

<sup>4)</sup> *M. Finkelstein*, Nature **171**, 254 (1953).

## Untersuchung der drei isolierten Stoffe.

Substanz Nr. 837 zeigte Smp. 261–264° und  $[\alpha]_D^{16} = -74^\circ$  (in Dioxan). Acetylierung lieferte ein krist. Acetat (Nr. 848), Smp. 189–191° und  $[\alpha]_D^{24} = -103^\circ$  (in Aceton), das mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung zeigte. Bei der Einwirkung von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig bei 20° blieb die Hauptmenge unverändert; daneben entstand eine kleine Menge eines neutralen Oxydationsproduktes vom Smp. 234–237°.

Acetat Nr. 812 zeigte Smp. 225–227° und  $[\alpha]_D^{15} = +18,6^\circ$  (in Aceton). Im UV. wurde nur eine schwache Bande mit einem Maximum bei 300 m $\mu$  und  $\log \varepsilon = 2,12$  beobachtet, was auf eine Ketogruppe deutet.

Das Acetat war gegen  $\text{CrO}_3$  in Eisessig bei 20° längere Zeit beständig. Alkalische Silberdiammin-Lösung wurde nicht reduziert. Tetranitromethan gab keine Färbung. Die Analyse passte auf  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_6$ . Verseifung des Acetats mit KOH in Methanol gab die krist. Substanz Nr. 838  $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4$  mit Doppel-Smp. 191–193°  $\rightarrow$  208–210° und  $[\alpha]_D^{16} = +19^\circ$  (in Aceton). Diese lieferte bei Acetylierung das Acetat Nr. 812 praktisch quantitativ zurück, woraus hervorgeht, dass bei der Verseifung keine Umlagerung eingetreten war. Dehydrierung von Nr. 838 mit  $\text{CrO}_3$  gab einen Neutralstoff (siehe unten).

Acetat Nr. 836 zeigte Smp. 236–240° und  $[\alpha]_D^{15} = +90,4^\circ$  (in Aceton). Alkalische Silberdiammin-Lösung wurde nicht reduziert. Tetranitromethan gab keine Gelbfärbung. Verseifung des Acetats gab die krist. Substanz Nr. 839 mit Doppel-Smp. 195°  $\rightarrow$  199°;  $[\alpha]_D^{17} = +90^\circ$  (in Aceton).

Nach diesen Vorversuchen wurden Proben der 3 reinen Stoffe und ihrer Acetate den Herren Dr. *T. F. Gallagher* und Dr. *D. K. Fukushima* übersandt, die sich freundlicherweise bereit erklärt hatten, die IR.-Spektren aufzunehmen und sie mit den Spektren der im *Sloan-Kettering Institute for Cancer Research, New York*, vorhandenen Kollektion von Harnsteroiden zu vergleichen<sup>1)</sup>. Sie schrieben uns am 13. Juni und 10. Juli 1952 u. a. folgendes.

„Das Acetat Nr. 848 (Acetat von Nr. 837) war identisch mit dem Androsten-(5)-triol-(3 $\beta$ , 16 $\alpha$ , 17 $\beta$ )-triacetat von *Hirschmann*<sup>2)</sup>.“ – Durch Mischprobe mit authentischem Material<sup>3)</sup> konnten wir die Identität weiter bestätigen. Auch die Analysen passten auf die angegebene Struktur.

<sup>1)</sup> Aufnahme und Interpretation der IR.-Spektren erfolgte durch Frl. *Frederika Herling* und Dr. *Estella Katzenellenbogen*. Wir möchten auch hier allen Genannten unseren besten Dank für ihre Hilfe aussprechen.

<sup>2)</sup> *H. Hirschmann*, J. Biol. Chem. **150**, 363 (1943).

<sup>3)</sup> Wir danken Herrn Dr. *H. Hirschmann* auch hier bestens für das übersandte Vergleichsmaterial.

„Substanz Nr. 839 und ihr Acetat Nr. 836 waren nach IR.-Spektrum identisch mit 11 $\beta$ -Oxy-androsteron<sup>1)</sup>.“ – Auch hier konnten wir die Identität durch Mischprobe<sup>2)</sup> bestätigen.

„Substanz Nr. 838 und ihr Acetat Nr. 812 konnten auf Grund der IR.-Spektren mit keinem Steroid der Sammlung des *Sloan-Kettering*-Instituts identifiziert werden.“ Auf Grund des IR.-Spektrums und der oben erwähnten Befunde sprachen *Gallagher* u. Mitarb. die Vermutung aus, dass ein 3,17,20-Trioxypregnanon-(11) oder ein entsprechendes Allopregnanon vorliegt, wobei nach dem IR.-Spektrum des Acetats die AcO-Gruppe an C-3 und das H-Atom an C-5 trans-ständig zueinander liegen sollten.

Nach diesem Befund blieb nur übrig, die Konstitution von Substanz Nr. 838 durch Abbau sicherzustellen.

Zunächst wurde das aus Nr. 838 mit CrO<sub>3</sub> erhaltene neutrale Oxydationsprodukt untersucht. Nach einiger Mühe gelang es, den Stoff zu kristallisieren. Er war identisch mit Ätiocholantriion-(3,11,17) (I)<sup>a)</sup>b)d). Ein noch etwas aufschlussreicheres Resultat gab die Oxydation mit HJO<sub>4</sub>: Neben Acetaldehyd wurde 3 $\alpha$ -Oxy-ätiocholondion-(11,17) (V)<sup>g)</sup>a)b) erhalten, das sich nach Mischprobe mit synthetischem Material (siehe unten) als identisch erwies. Auch eine von Dr. *Gallagher* freundlichst überlassene Probe gab bei der Mischprobe keine Depression. Die in der früheren Literatur<sup>a)</sup>b) für diesen Stoff gegebene spez. Drehung (+ 95,8° in Alkohol) ist jedoch unrichtig. Dieses Resultat zeigt, dass es sich bei Substanz Nr. 838 entweder um 3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -Trioxypregnanon-(11) (II)<sup>e)</sup>e) oder um 3 $\alpha$ ,17,20 $\beta$ -Trioxypregnanon-(11) (IX)<sup>e)</sup>k) handeln muss. Diese zwei Stoffe sind bekannt. Sie wurden zuerst von *Sarett*<sup>e)</sup> auf zwei verschiedenen Wegen synthetisiert. Die Konfiguration an C-20 wurde hauptsächlich auf Grund der Drehungen erschlossen<sup>3)</sup>. Wir haben die Synthese in geringer Modifikation des zweiten von *Sarett*<sup>e)</sup> benützten Weges wiederholt.

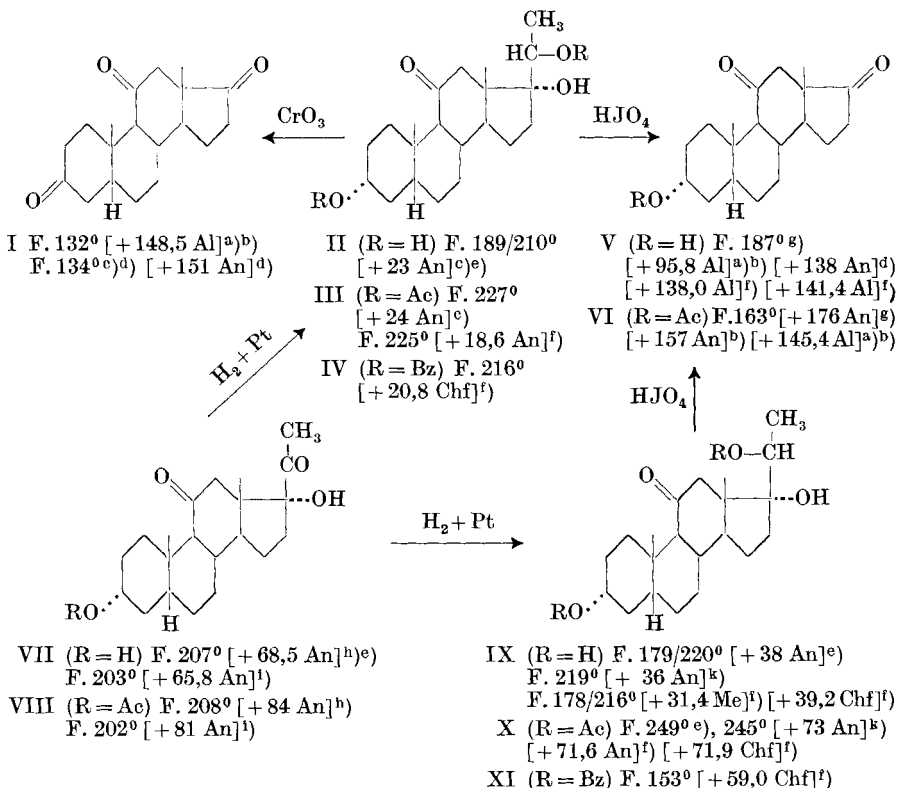
Als Ausgangsmaterial diente das bekannteste 3 $\alpha$ ,17-Dioxypregnanondion-(11,20) (VII)<sup>b)</sup>e)l)<sup>4)</sup>. Sein Acetat VIII wurde mit Pt und H<sub>2</sub> in Eisessig hydriert, das rohe Hydrierungsgemisch acetyliert und das rohe Acetatgemisch zur Rückoxydation evtl. entstandener 11 $\beta$ -Oxyverbindungen mit CrO<sub>3</sub> dehydriert. Es resultierte ein Gemisch von viel 20 $\beta$ -Acetat X mit wenig 20 $\alpha$ -Acetat III, aus dem sich die Hauptmenge X leicht durch direkte Kristallisation abtrennen liess.

1) *H. L. Mason*, *J. Biol. Chem.* **158**, 719 (1945); *H. L. Mason & E. J. Kepler*, *J. Biol. Chem.* **161**, 235 (1945).

2) Wir danken Herrn Dr. *R. J. Dorfman*, Shrewsbury, Mass., USA., auch hier bestens für eine Probe authentischen 11 $\beta$ -Oxy-androsterons.

3) *L. H. Sarett*, *Am. Soc.* **71**, 1175 (1949).

4) Wir danken der *Ciba Aktiengesellschaft*, Basel, auch hier bestens für die Überlassung von 5 g dieses Präparats.



Ac = CH<sub>3</sub>CO—, Bz = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung in folgenden Lösungsmitteln an: Al = Äthanol, An = Aceton, Chf = Chloroform, D = Dioxan, Me = Methanol.

Wie schon *Sarett*<sup>e)</sup> fand, ist es schwierig, aus der Mutterlauge das 20 $\alpha$ -Acetat III zu isolieren. Nach Chromatographie gelang es aber, eine kleine Menge rein zu fassen. Etwas besser gelang die Trennung der Gemische über die Dibenzoate IV und XI<sup>1)</sup>. *Sarett*<sup>e)</sup> erhielt das

<sup>a)</sup> S. Lieberman & K. Dobriner, J. Biol. Chem. **166**, 773 (1946).

<sup>b)</sup> S. Lieberman, K. Dobriner, B. R. Hill, L. F. Fieser & C. P. Rhoads, J. Biol. Chem. **172**, 266 (1948).

<sup>c)</sup> L. H. Sarett, Am. Soc. **70**, 1690 (1948).

<sup>d)</sup> H. L. Herzog, M. A. Jevnik, P. L. Perlman, A. Nobile & E. B. Hershberg, Am. Soc. **75**, 266 (1953).

<sup>e)</sup> L. H. Sarett, Am. Soc. **71**, 1169 (1949).

<sup>f)</sup> Exper. Teil dieser Arbeit.

<sup>g)</sup> L. H. Sarett, J. Biol. Chem. **162**, 601 (1946).

<sup>h)</sup> L. H. Sarett, Am. Soc. **70**, 1454 (1948).

<sup>i)</sup> T. H. Kritchevsky, D. L. Garmaise & T. F. Gallagher, Am. Soc. **74**, 483 (1952).

<sup>k)</sup> E. P. Oliveto & E. B. Hershberg, Am. Soc. **75**, 488 (1953).

<sup>1)</sup> Nach R. V. Brooks, W. Klyne & E. Müller, Biochem. J. **54**, 212 (1953), sind zur Trennung raumisomerer 20 $\alpha$ - und 20 $\beta$ -Oxysteroiden die Benzoate oft besonders geeignet.

reine 20 $\alpha$ -Derivat über das 3 $\alpha$ -Acetat-20 $\alpha$ -benzoat. Das 20 $\alpha$ -Derivat II und sein Diacetat erwiesen sich als identisch mit der aus Harn isolierten Substanz Nr. 838, bzw. ihrem Diacetat Nr. 812. Abbau des 20 $\beta$ -Triols IX mit HJO<sub>4</sub> lieferte wieder 3 $\alpha$ -Oxy-ätiocolan-dion-(11,17) (V), das sich mit dem aus Substanz Nr. 838 erhaltenen Präparat als identisch erwies.

Der eine von uns (*M. F.*) dankt der Hebräischen Universität Jerusalem für ein Stipendium und die Bewilligung eines Urlaubs, wodurch es ihm ermöglicht wurde, sich an dieser Arbeit in Basel zu beteiligen.

Wir danken Herrn Prof. Dr. *B. Zondek*, Jerusalem, für sein Interesse und die Förderung dieser Arbeit sowie Herrn Dr. *Ch. Tamm* für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

### Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in hier benützter Ausführungsform bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 70° und 0,1 Torr getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von Wasser, Ausschütteln mit Äther (oder anderem Lösungsmittel, falls angegeben), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen. Chromatographien wurden nach dem Durchlaufverfahren<sup>1)</sup> ausgeführt. Das dafür benützte Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> wurde nach früherer Angabe<sup>2)</sup> von Alkali befreit, aber nur bei 185° reaktiviert.

#### Bereitung des Konzentrats aus Harn.

Die während 24 Std. gesammelten Harnproben von zwei weiblichen Pseudohermaphroditen wurden bis zur Übergabe ans Laboratorium bei ca. 4° gehalten. Sie wurden bei Ankunft mit konz. HCl bis zu einem Gehalt von 2,5% HCl (= 7% konz. HCl vom Volumen) versetzt und 20 Min. auf 97° erhitzt. Dann wurde rasch mit Eiswasser gekühlt und 3mal mit je  $\frac{1}{2}$  Volumen Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen wurden viermal mit je  $\frac{1}{2}$  ihres Volumens an n. NaOH, dann mit etwas gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen, wobei die Waschlösungen einen Scheidetrichter mit frischem Äther passierten. Der beim Eindampfen der vereinigten Ätherlösungen erhaltene braune amorphe Rückstand wurde bei 0° gehalten, bis Material aus 20 l Harn gesammelt war. Dieses Material wurde mit 7,5 cm<sup>3</sup> Äthanol verflüssigt, mit 300 cm<sup>3</sup> Benzol und 300 cm<sup>3</sup> Petroläther vermischt und zuerst einmal mit 600 cm<sup>3</sup>, dann noch zweimal mit je 300 cm<sup>3</sup> Wasser ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Lösungen wurden mit NaOH auf pH = 8 gebracht und dreimal mit je 600 cm<sup>3</sup> Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen Lösungen wurden eingedampft. Der Rückstand wurde in 100 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit 100 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und mit 200 cm<sup>3</sup> CCl<sub>4</sub> energisch ausgeschüttelt. Die entstehende Emulsion wurde durch Zentrifugieren getrennt. Die CCl<sub>4</sub>-Phase wurde verworfen. Die wässrig-methanolische Phase wurde im Vakuum eingedampft. Insgesamt wurden aus 100 l der genannten Harnproben 2,005 g Material erhalten. Fluorometrische Kontrolle der Extraktion zeigte, dass sich die Hauptmenge des fluorogenen Materials in diesem Extrakt befand und dass die genannten 2,005 g (aus 100 l) fluorogenes Material entsprechend 0,400 g 17-Oxycorticosteron<sup>3)</sup> enthielten.

<sup>1)</sup> *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, Discussions of the Faraday Soc. **1949**, Nr. 7, 305.

<sup>2)</sup> *J. v. Ewv, A. Lardon & T. Reichstein*, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944).

<sup>3)</sup> 17-Oxycorticosteron (= Hydrocortison) diene als Standard, solange die fluorogene Substanz nicht bekannt war. Später zeigte es sich, dass 3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -Trioxy-11-ketopregnan eine ca. 1,5-fach schwächere Fluoreszenz gibt als 17-Oxycorticosteron. Die 2,005 g Material gaben somit eine Fluoreszenz, die ca. 0,600 g des genannten Trioxypregnan-derivates entsprach.

## Isolierung reiner Stoffe aus obigem Konzentrat.

Erster Vorversuch. 80 mg Konzentrat (aus ca. 20 l Harn derselben Patienten, aber von früherer Charge, Febr. 1951) wurden bei 0,01 Torr und 30° getrocknet und zur Acetylierung mit 1 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,7 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 100 mg neutrales Rohprodukt (brauner Sirup), das an 3,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 1—5 (eluiert mit Petroläther-Benzol von 10—55% Benzolgehalt) gaben nur 2 mg petrolätherlösliches Öl (nicht untersucht) (Fluoreszenz<sup>2</sup>) violett-blau).

Die Fraktion 6 (8 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (1:3) kristallisierte nicht (Fluoreszenz<sup>1</sup>) schwach violett).

Die Fraktionen 7—12 (27 mg, eluiert mit Benzol und Benzol-Äther von 4—15% Äthergehalt) gaben nach zweimaligem Kristallisieren aus Aceton-Äther 8 mg reines „Acetat Nr. 812“ in länglichen Blättchen, Smp. 225—227°,  $[\alpha]_D^{19} = +23,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$ . (Fluoreszenz<sup>2</sup>) violettblau.)

Die Fraktionen 13—14 (10,5 mg, eluiert mit Benzol-Äther von 30 und 60% Äthergehalt) gaben aus Aceton-Äther 2,5 mg reines „Acetat Nr. 836“ in Nadeln, Smp. 236—240°.

Die weiteren Fraktionen 15—20 gaben insgesamt noch 29,5 mg Material. Jede dieser Fraktionen wurde noch einzeln im Fluorometer quantitativ geprüft. Es zeigte sich, dass „Acetat Nr. 812“ weitaus die stärkste Fluoreszenz zeigte und dass die isolierten 8 mg fast vollständig für die Fluoreszenz des rohen Konzentrates verantwortlich waren.

Vorversuch 2. 155 mg Konzentrat (aliquoter Teil der 2,005 g, entsprechend ca. 7,7 l Harn) wurden wie oben acetyliert und das rohe Acetat (209 mg) an 6,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die Fraktionen 1—3 (149 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol von 10—35% Benzolgehalt) gaben 24 mg reines „Acetat Nr. 812“, Smp. 225—226°. (Die 125 mg Mutterlauge dienen für Chromatographie beim Hauptversuch.)

Die weiteren Fraktionen kristallisierten nicht und wurden nicht weiter untersucht.

Die 24 mg „Acetat Nr. 812“ wurden mit 100 mg KOH in 3 cm<sup>3</sup> Methanol 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von 200 mg KHCO<sub>3</sub>, Entfernung des Methanols im Vakuum, Zusatz von etwas Wasser wurde mit Chloroform-Äther (1:4) ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 17 mg rohes Verseifungsprodukt. Aus feuchtem Äther kleine Nadeln, Smp. 188—190°. Aus wenig Methanol mit viel Äther Smp. 192—193°. 8 mg dieser Kristalle vom Smp. 192—193° wurden acetyliert. Sie gaben 11 mg rohes Acetat und aus wenig Methanol-Äther 8 mg reine Kristalle, Smp. 225—226°, Mischprobe mit „Acetat Nr. 812“ ebenso.

Vorversuch 3. 240 mg Konzentrat (entspr. ca. 12 l Harn) wurden direkt an 7,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 1—10 (eluiert mit Benzol, Benzol-Äther und reinem Äther) gaben nur 6 mg Eluat, leicht löslich in Äther-Petroläther, verworfen.

Die Fraktionen 11—13 (zusammen 33 mg, eluiert mit Äther sowie Äther unter Zusatz von 1 und 2% Gemisch von Methanol-Chloroform-Äthylacetat (1:1:1)) gaben aus Aceton-Äther ca. 1 mg Kristalle, Smp. 186—194°. Mischprobe mit 3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -Trioxypregnanon-(11) (II) vom Smp. 192—193/210° schmolz bei 160—185°. (Kristalle und Mutterlauge zur Acetylierung für Hauptversuch verwendet.)

Die Fraktionen 14—16 (zusammen 172 mg, eluiert mit Äther unter Zusatz von 2 und 3% von obigem Gemisch) gaben aus Aceton 4 mg reines „Triol Nr. 837“ (Androsten-(5)-triol-(3 $\beta$ , 16 $\alpha$ , 17 $\beta$ )). Umkristallisieren aus Dioxan-Aceton gab 3 mg vom Smp. 252—261°. Die Mutterlauge (169 mg) wurde zur Acetylierung für Hauptversuch verwendet.

Hauptversuch. Die verbliebenen 1,61 g Konzentrat (entspr. ca. 80 l Harn) gaben aus Methanol-Äther (1:1) nach kurzem Stehen etwas rohe Kristalle des „Triols Nr. 837“. Aus Dioxan-Aceton 23 mg reines Material in farblosen Körnern, Smp. 261—264°.

<sup>1</sup>) Hier ist nur die sichtbare Fluoreszenz gemeint, auf die wie folgt geprüft wurde. Ca. 0,1 mg Substanz im Glühröhr mit 0,1 cm<sup>3</sup> 85-proz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> verschlossen 15 Min. auf 100° erhitzt, dann im UV.-Licht beobachtet.

und 2 mg wenig tiefer schmelzende Kristalle. Nach Mischprobe identisch mit den Kristallen aus Frakt. 14—16 vom Vorversuch 3.

Die Mutterlaugen (1,585 g) wurden vereinigt mit den 125 mg Mutterlaugen von Fr. 1—3 vom Vorversuch 2 und mit den 202 mg Mutterlaugen von Fr. 11—16 vom Vorversuch 3. Das Ganze (1,912 g) wurde wie oben acetyliert und das rohe Acetatgemisch (2,4 g dunkelbrauner Sirup) an 75 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert.

Fraktion 1, eluiert mit Petroläther-Benzol von 4% Benzolgehalt, gab 434 mg amorphes Eluat. Dieses wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 140—170° Badtemperatur destilliert. Das Destillat (415 mg) war löslich in Petroläther und kristallisierte nicht.

Die Fraktionen 2—10 (1,38 g, eluiert mit Petroläther-Benzol, reinem Benzol und bei Fr. 10 mit reinem Äther) gaben aus Aceton-Äther (1:10) zunächst 290 mg „Acetat Nr. 812“ vom Smp. 220—223° und 60 mg vom Smp. 214—220°. Letztere waren leicht braun. Sie wurden im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 165—185° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat wurde mit den 290 mg Kristallen vom Smp. 220—223° vereinigt und aus Aceton-Äther (1:5) unkristallisiert. Es resultierten 150 mg reines „Acetat Nr. 812“. Die Kristall-Mutterlaugen dienten für zweite Chromatographie (siehe unten).

Die Fraktionen 1—16 (zusammen 116 mg, eluiert mit Äther und Äther unter Zusatz von 3—22% Gemisch von Methanol-Chloroform-Äthylacetat (1:1:1)) gaben dunkelbraunes, amorphes Material. Von diesem Material liessen sich im Molekularkolben bei 0,01 Torr bei 190° Badtemperatur ca. 70 mg destillieren. (Siehe unten.)

Die Fraktionen 17—24 (eluiert mit Äther plus 30—65% obigem Gemisch, reinem Gemisch sowie Gemisch mit 0,2—1,5% Eisessig) gaben noch zusammen 277 mg dunkelbraunes, amorphes Eluat. Von diesem liessen sich im Molekularkolben bei 0,01 Torr bis 190° Badtemperatur ca. 70 mg destillieren.

Die durch Spritzer leicht verunreinigten Destillate der Fraktionen 11—24 wurden vereinigt und nochmals destilliert. Erhalten wurden bei 0,01 Torr und 160° Badtemperatur 80 mg. Von diesen liessen sich bei 110—115° (bei 0,005 Torr) 65 mg destillieren. Das Destillat gab aus wenig Äther etwas Kristalle, die aber nicht weiter untersucht wurden.

Zweite Chromatographie. Die 1,03 g Mutterlaugen der Fraktionen 2—10 der ersten Chromatographie wurden im Molekularkolben bei 0,01 Torr destilliert. Bei 145° Badtemperatur destillierten 240 mg und von 145—180° noch 750 mg. Letztere gaben aus Äther-Petroläther noch 10 mg Kristalle, Smp. 210—220°. Diese 10 mg wurden mit den 200 mg Kristallmutterlaugen aus Fr. 2—10 vereinigt und das Ganze (210 mg) an 6 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 2—5 (112 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol von 15—30% Benzolgehalt) gaben aus Aceton-Äther (1:5) 47 mg reines „Acetat Nr. 812“ vom Smp. 224—226° und noch 40 mg vom Smp. 221—225°.

Die Fraktionen 6—9 (83 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol von 45—60% Benzolgehalt) gaben aus Aceton-Äther (1:2) 36 mg reines „Acetat Nr. 836“ vom Smp. 238—240° und 18 mg vom Smp. 232—239°.

Die weiteren Fraktionen 10—20 gaben insgesamt nur noch 12 mg amorphes Eluat.

Totale Ausbeute an Kristallen aus 100 l Harn somit: 20 mg „Triol Nr. 837“, 261 mg „Acetat Nr. 812“ und 54 mg „Acetat Nr. 836“. Es ist aber zu berücksichtigen, dass hier hauptsächlich die Isolierung von „Acetat Nr. 812“ angestrebt wurde. Auf die Isolierung der Nebenprodukte wurde kein besonderer Wert gelegt.

#### Identifizierung der isolierten Stoffe.

„Triol Nr. 837“ = Androsten-(5)-triol-(3  $\beta$ , 16  $\alpha$ , 17  $\beta$ ). Aus Dioxan-Aceton farblose Körner, Smp. 261—264°,  $[\alpha]_D^{16} = -74^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,595$  in Dioxan)<sup>1</sup>.

3,794 mg Subst. gaben 10,200 mg  $\text{CO}_2$  und 3,292 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (OAB)

$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$  (306,43) Ber. C 74,22 H 9,86% Gef. C 73,36 H 9,71%

<sup>1</sup>) Die Lösung war übersättigt, nach 15 Min. begann ein Teil auszukristallisieren, daher ist der Wert nicht sehr genau.



Der Stoff war N-frei und halogenfrei, sehr schwer löslich in Aceton, Chloroform und Äther, etwas leichter in Dioxan und Methanol.

Acetat Nr. 848. 8 mg Kristalle vom Smp. 261—264° in 150 mg abs. Pyridin und 100 mg Acetanhydrid 16 Std. auf 34° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 10,5 mg Rohprodukt, das im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 170—180° destilliert wurde. Das Destillat gab aus Äther-Petroläther 7 mg farblose, längliche sechseckige Blättchen, Smp. 189—191°,  $[\alpha]_D^{24} = -103^0 \pm 4^0$  ( $c = 0,5826$  in Aceton). Tetranitromethanprobe: positiv (gelb), Reduktionsprobe mit alkalischer Silberdiamminlösung (in wenig Methanol): negativ. Nach IR.-Spektrum (siehe theoret. Teil) identisch mit Androsten-(5)-trioi-(3 $\beta$ , 16 $\alpha$ , 17 $\beta$ )-triacetat. Authentisches Material<sup>1)</sup> sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Das Triacetat wurde von CrO<sub>3</sub> in Eisessig bei mehrstündigem Stehen etwas angegriffen. Aus dem neutralen Reaktionsgemisch liessen sich nach Chromatographie neben Ausgangsmaterial etwas Kristalle (Blättchen aus Äther) vom Smp. 234—237° gewinnen.

„Acetat Nr. 836“ (= 11 $\beta$ -Oxy-androsteron-monoacetat). Aus Aceton-Äther farblose flache Nadeln, Smp. 236—240°,  $[\alpha]_D^{15} = +90,4^0 \pm 2^0$  ( $c = 1,2171$  in Aceton).

4,130 mg Subst. gaben 10,910 mg CO<sub>2</sub> und 3,375 mg H<sub>2</sub>O (A.P.)

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub> (348,47) Ber. C 72,38 H 9,28% Gef. C 72,09 H 9,14%

Das Acetat war N-frei und Halogen-frei. Tetranitromethanprobe: negativ; Reduktionsprobe mit alkalischer Silberdiamminlösung: negativ. Nach IR.-Spektrum (vgl. theoret. Teil) identisch mit 11 $\beta$ -Oxy-androsteron-acetat.

Verseifung. 30 mg „Acetat Nr. 836“ wurden mit 30 mg KOH in 3 cm<sup>3</sup> Methanol 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Übliche Aufarbeitung gab 25 mg Rohprodukt. Zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab 7 mg sechseckige Plättchen, Smp. 195 → 199° (unter teilweiser Umwandlung). Nochmalige Verseifung der Mutterlauge und Chromatographie gab noch 6 mg gleiche Kristalle,  $[\alpha]_D^{17} = +90^0 \pm 3^0$  ( $c = 0,6342$  in Aceton). Nach IR.-Spektrum (vgl. theoret. Teil) identisch mit 11 $\beta$ -Oxy-androsteron. Authentisches Material<sup>2)</sup> und die Mischprobe schmolzen gleich.

„Acetat Nr. 812“ (= 3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11)). Aus Aceton-Äther farblose längliche sechseckige Blättchen oder flache Nadeln, Smp. 225—226°,  $[\alpha]_D^{15} = +18,6^0 \pm 1,5^0$  ( $c = 1,6979$  in Aceton).

16,990 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = +0,315^0 \pm 0,02^0$

3,437; 4,640 mg Subst. gaben 8,741; 11,790 mg CO<sub>2</sub> und 2,743; 3,524 mg H<sub>2</sub>O (OAB; A.P.)

C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub> (434,55) Ber. C 69,09 H 8,81% Gef. C 69,40; 69,34 H 8,93; 8,50%

Tetranitromethanprobe: negativ; Reduktionsprobe: negativ. Der Stoff war N-, S- und Halogen-frei. Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei 300 m $\mu$  und  $\log \epsilon = 2,12$ .

Dehydrierungsversuch. 29 mg „Acetat Nr. 812“ in 0,5 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 0,2 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (= 4 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 24 Std. bei 18° stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> vorhanden war. Die übliche Aufarbeitung gab 27 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther farblose flache Nadeln, Smp. 222—225°, Mischprobe mit Ausgangsmaterial ebenso.

Verseifung. 120 mg „Acetat Nr. 812“ mit 200 mg KOH in 10 cm<sup>3</sup> Methanol 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung gab 100 mg Rohprodukt. Aus Methanol-Äther feine Nadeln, dann aus Aceton-Äther 83 mg Prismen mit Doppel-Smp. 191—193°/208—210°,  $[\alpha]_D^{16} = +19,0^0 \pm 2^0$  ( $c = 1,0271$  in Aceton).

10,277 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,195^0 \pm 0,02^0$

4,411 mg Subst. gaben 11,690 mg CO<sub>2</sub> und 3,733 mg H<sub>2</sub>O (A.P.)

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350,48) Ber. C 71,96 H 9,77% Gef. C 72,32 H 9,47%

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Dr. H. Hirschmann auch hier für die Überlassung dieser Vergleichsprobe.

<sup>2)</sup> Wir danken Herrn Dr. R. J. Dorfman bestens für das Vergleichsmaterial.

Dehydrierung. 45 mg Verseifungsprodukt vom Smp. 191—193°/208—210° in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig portionsweise mit insgesamt 1,25 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (= 25 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und zum Schluss noch 5 Std. bei 18° stehengelassen, worauf noch etwas CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Die übliche Aufarbeitung gab 30 mg neutrales Rohprodukt, das im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 140—155° Badtemperatur destilliert wurde. Das farblose Destillat (29 mg) kristallisierte nach mehreren Monaten, doch liessen sich direkt keine scharf schmelzenden Kristalle gewinnen. Es wurde an 1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Benzol, Benzol-Äther und reinem Äther eluierbaren Anteile (20 mg) gaben aus Äther-Petroläther, dann aus wenig reinem Äther 13 mg rechteckige oder quadratische Kristalle, Smp. 133—134°,  $[\alpha]_D^{22} = +146,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9674$  in Aceton).

3,412 mg Subst. gaben 9,459 mg CO<sub>2</sub> und 2,670 mg H<sub>2</sub>O (OAB)

C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub> (302,40) Ber. C 75,46 H 8,65% Gef. C 75,66 H 8,76%

Authentisches Ätiocholantriion-(3,11,17)<sup>1)</sup> und die Mischprobe schmolzen gleich.

Abbau mit HJO<sub>4</sub>. 19 mg Verseifungsprodukt vom Smp. 191—193°/208—210° in 0,8 cm<sup>3</sup> reinstem Dioxan (frisch über Na destilliert) im Destillationskölbchen mit 30 mg HJO<sub>4</sub> in 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und bei 25° mit einem langsamen Strom von CO<sub>2</sub> behandelt. Das abziehende Gas wurde in eine frisch bereitete, auf 0° gekühlte Lösung von 100 mg p-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid in 1,5 cm<sup>3</sup> Wasser eingeleitet, worin sich allmählich eine gelbbraune kristalline Fällung abschied. Nach 1 Std. wurde abgebrochen.

Der Niederschlag in der Vorlage wurde abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt (7 mg, Smp. 115—121°) gab aus wenig Toluol-Petroläther 3 mg braungelbe flache Nadeln, Smp. 123—125°. Authentisches Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazin schmolz bei 128—129°, die Mischprobe bei 124—126°.

Die im Destillationskölbchen verbleibende Dioxanlösung wurde mit wässriger K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert, im Vakuum von der Hauptmenge Dioxan befreit und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschene und getrocknete Lösung gab beim Eindampfen 15 mg rohes Neutralprodukt. Aus Aceton-Äther 10 mg farblose Nadeln, Smp. 183—185°. Es wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 130—150° Badtemperatur sublimiert und nochmals aus Aceton-Äther umkristallisiert. Farblose Nadeln, meistens mit Doppel-Smp. 184° → 188—189°,  $[\alpha]_D^{22} = +141,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9754$  in Äthanol).

9,76 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{22} = +1,37^\circ \pm 0,02^\circ$

Authentisches 3 $\alpha$ -Oxy-ätiocholondion-(11,17)<sup>2)</sup>, sowie das durch Abbau von IX gewonnene Präparat und die Mischprobe schmolzen gleich.

Synthese von 3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (III) und  
3 $\alpha$ , 20 $\beta$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (X).

2 g 3 $\alpha$ , 17-Dioxypregnandion-(11,20) (VII)<sup>3)</sup> vom Smp. 203—206° wurden mit 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 16 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 2,19 g Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 1,9 g farblose Kristalle, Smp. 203—206°. Die Mischprobe mit Ausgangsmaterial schmolz bei 170—183°.

Die 1,9 g Kristalle wurden in 20 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 375 mg PtO<sub>2</sub> bei 20° hydriert, bis etwas mehr als 1 Mol H<sub>2</sub> aufgenommen waren und die Hydrierung sich stark verlangsamte. Dann wurde filtriert und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt (1,9 g) wurde mit 10 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 6 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 16 Std. auf 34° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 1,92 g rohes Acetatgemisch, das in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig portionsweise mit CrO<sub>3</sub>-Eisessiglösung versetzt wurde, bis nach 2-stündigem Stehen noch CrO<sub>3</sub> nachweisbar war (dafür waren ca. 40 mg CrO<sub>3</sub> nötig). Die übliche Aufarbeitung gab 1,9 g

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Dr. T. F. Gallagher und Herrn Dr. D. K. Fukushima auch hier bestens für die Überlassung einer Probe dieses Materials.

<sup>2)</sup> Wir danken Herrn Dr. S. Lieberman auch hier bestens für die Überlassung einer Probe dieses Materials.

<sup>3)</sup> Wir danken der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, auch hier für die Überlassung dieses Materials.

krist. Rohprodukt. Kristallisation aus Aceton gab 1,2 g reines 20 $\beta$ -Derivat, Smp. 243—246°, sowie 0,2 g vom Smp. 240—246° und 0,175 g vom Smp. 238—245°. Die Mutterlauge (325 mg) lieferte aus Aceton-Äther 60 mg unreines 20 $\alpha$ -Derivat, Smp. 217—225°. Die nunmehr verbleibenden Mutterlaugen (265 mg) wurden an 10 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 1—5 (eluiert mit Petroläther-Benzol von 40—80% Benzolgehalt) gaben nur 16 mg Öl. Die weiteren Fraktionen gaben durchweg Kristalle, wobei aber nur eine schlechte Trennung der 20 $\alpha$ - und 20 $\beta$ -Derivate eintrat. Immerhin wurde letzteres etwas leichter eluiert.

Die Fraktionen 6—8 gaben aus Aceton 22 mg 20 $\beta$ -Derivat, Smp. 235—241°.

Die Fraktionen 9—14 gaben zunächst Gemische, aus denen sich mit Benzol-Äther noch 20 mg 20 $\beta$ -Derivat abtrennen liessen. Aus der Mutterlauge liess sich etwas Gemisch und dann unreines 20 $\alpha$ -Derivat, Smp. 210—220°, gewinnen.

Die Fraktionen 15—20 gaben aus Aceton zuerst noch wenig 20 $\beta$ -Derivat und aus der Mutterlauge 14 mg rohes 20 $\alpha$ -Derivat, Smp. 218—225°.

Alle vereinigten 20 $\alpha$ -Kristallisate wurden nochmals aus Aceton-Äther kristallisiert und gaben 30 mg fast reines 20 $\alpha$ -Derivat, Smp. 223—226°. Ausserdem wurden bei diesem Versuch insgesamt 1,597 g 20 $\beta$ -Derivat erhalten und 0,273 g Gemische, die über die Benzoate getrennt wurden (siehe unten).

3 $\alpha$ , 20 $\beta$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (X). Aus Aceton durch Einengen farblose Nadeln, Smp. 244—246°,  $[\alpha]_D^{24} = +71,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,0744$  in Aceton);  $[\alpha]_D^{24} = +71,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,0563$  in Chloroform).

4,722 mg Subst. gaben 11,910 mg CO<sub>2</sub> und 3,680 mg H<sub>2</sub>O (OAB)

C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub> (434,55) Ber. C 69,09 H 8,81% Gef. C 68,83 H 8,72%

3 $\alpha$ , 17, 20 $\beta$ -Trioxy-pregnanon-(11) (IX). 37 mg Diacetat vom Smp. 241—245° wurden, wie bei „Acetat Nr. 812“ beschrieben, verseift. Das Rohprodukt (29 mg) gab aus Aceton-Äther 25 mg farblose Plättchen, Smp. 178—180°/217—218°,  $[\alpha]_D^{24} = +39,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,0183$  in Chloroform) resp.  $[\alpha]_D^{23} = +31,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,8594$  in Methanol).

10,20 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,40^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

8,60 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,27^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,878 mg Subst. gaben 10,240 mg CO<sub>2</sub> und 3,410 mg H<sub>2</sub>O (OAB)

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350,48) Ber. C 71,96 H 9,78% Gef. C 72,06 H 9,84%

Abbau mit HJO<sub>4</sub>. 20 mg 3 $\alpha$ , 17, 20 $\beta$ -Trioxy-pregnanon-(11) (IX) vom Smp. 178/215—217° wurden wie oben beschrieben mit 30 mg HJO<sub>4</sub> abgebaut. Erhalten wurden 8 mg rohes Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon und 17 mg rohes 3 $\alpha$ -Oxy-ätiocolandion-(11,17) (V). Letzteres gab aus Äther 15 mg Kristalle, Smp. 183—186°. Umkristallisiert aus Äther 8 mg Nadeln, Doppel-Smp. 183—185°  $\rightarrow$  188—189°,  $[\alpha]_D^{25} = +138,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,6446$  in abs. Äthanol). Die Mischprobe mit authentischem Material schmolz gleich, ebenso diejenige mit dem analogen Abbauprodukt aus der 20 $\alpha$ -Verbindung aus Harn.

3 $\alpha$ -Acetoxy-ätiocolandion-(11,17) (VI). 21 mg 3 $\alpha$ -Oxy-ätiocolandion-(11,17) (V) vom Doppel-Smp. 183—185°  $\rightarrow$  188—189° (aus IX bereitet) wurden wie üblich acetyliert. Das Rohprodukt (23 mg) gab nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aus Benzol-Petroläther 17 mg farblose Nadeln, Smp. 162—164°. Authentisches Material<sup>1)</sup> und die Mischprobe schmolzen gleich.

3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (III). Aus Aceton-Äther farblose dünne flache Nadeln, Smp. 223—226°,  $[\alpha]_D^{23} = +22,7^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$  ( $c = 1,756$  in Aceton) resp.  $[\alpha]_D^{23} = +27,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,179$  in Chloroform).

17,57 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,40^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

11,80 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,33^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,249 mg Subst. gaben 10,461 mg CO<sub>2</sub> und 3,250 mg H<sub>2</sub>O (OAB)

C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub> (434,55) Ber. C 69,09 H 8,81% Gef. C 68,48 H 8,72%

Die Mischprobe mit „Acetat Nr. 812“ gab keine Depression.

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Dr. L. H. Sarett bestens für diese Probe.

3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -Trioxy-pregnanon-(11) (II). 20 mg 3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -Diacetoxy-17-oxy-pregnanon-(11) vom Smp. 223–226° mit 200 mg KOH in 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> Methanol 16 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung (mit Chloroform-Äther) gab 15 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 11 mg feine Nadeln mit Doppel-Smp. 192–193°/208–210°,  $[\alpha]_D^{23} = +20,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,889$  in Aceton).

8,90 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,18^\circ \pm 0,02^\circ$

Es ist möglich, dass dieses Präparat noch Spuren 20 $\beta$ -Derivat enthielt. Die Mischung mit dem Verseifungsprodukt von „Acetat Nr. 812“ schmolz gleich.

3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -Dibenzoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (IV). 12 mg 3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -Trioxy-pregnanon-(11) bei 0,01 Torr getrocknet in 1 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,1 cm<sup>3</sup> reinstem Benzoylchlorid versetzt und unter H<sub>2</sub>O-Ausschluss 3 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Zusatz von 0,3 cm<sup>3</sup> Methanol wurde noch 3 Std. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und Vorreinigung durch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aus Methanol 11 mg Nadeln<sup>1)</sup>, Smp. 216–218°,  $[\alpha]_D^{23} = +20,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,814$  in Chloroform).

8,15 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,17^\circ \pm 0,02^\circ$

3,161 mg Subst. gaben 8,740 mg CO<sub>2</sub> und 2,185 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub> (558,38) Ber. C 75,24 H 7,58% Gef. C 75,46 H 7,73%

Die Mutterlauge gab noch 4 mg vom Smp. 210–216°.

3 $\alpha$ , 20 $\beta$ -Dibenzoxy-17-oxy-pregnanon-(11) (XI). 115 mg 3 $\alpha$ , 17, 20 $\beta$ -Trioxy-pregnanon-(11) (X) vom Doppel-Smp. 178–180°/217–218° wurden wie oben benzyliert. Das Rohprodukt gab nach chromatographischer Reinigung 138 mg Benzoat. Aus Methanol 100 mg gallertige Kristalle, Smp. 153–155°,  $[\alpha]_D^{23} = +59,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,303$  in Chloroform).

13,04 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = +0,77^\circ \pm 0,02^\circ$

11,069 mg Subst. gaben 11,210 mg CO<sub>2</sub> und 2,692 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub> (558,38) Ber. C 75,24 H 7,58% Gef. C 75,18 H 7,40%

Trennung des Gemisches von 3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -Trioxy-pregnanon-(11) und 3 $\alpha$ , 17, 20 $\beta$ -Trioxy-pregnanon-(11) über die Benzoate. 200 mg des Acetatesgemisches (siehe oben) wurden verseift und das rohe Carbinolgemisch (170 mg) wie oben benzyliert (3 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid). Das erhaltene Rohprodukt wurde an 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 1–5 (eluiert mit Petroläther-Benzol von 10–20% Benzolgehalt) gaben nur Benzoessäure-methylester (verworfen).

Die Fraktionen 6–8 (134 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol von 40–60% Benzolgehalt) gaben aus Methanol 80 mg 20 $\beta$ -Benzoat in gallertigen Kristallen, Smp. 153–155°, Misch-Smp. ebenso.

Die Fraktionen 9–10 (20 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (40:60)) gaben Gemische.

Die Fraktionen 11–18 (36 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (20:80), reinem Benzol und Benzol-Äther von 2–5% Äthergehalt) gaben aus Methanol 15 mg 20 $\alpha$ -Benzoat in Nadeln, Smp. 215–217°.

Weitere Fraktionen gaben keinen Rückstand mehr.

Die Mikroanalysen wurden teils im Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt Basel (Leitung E. Thommen) (OAB), teils bei Herrn A. Peisker, Brugg, (A. P.) ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Die Isolierung von 3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -Trioxy-pregnanon-(11) aus dem Harn von zwei weiblichen Pseudohermaphroditen wird beschrieben.

Hormone Research Laboratory, Hebrew University,  
Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel,  
Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> Die Kristalle wurden beim Abnutschen und Trocknen opak und schienen dabei die Form zu ändern.