

Diacetyldosteron wurde in Dosen von 0,3 und 0,6  $\gamma$  an je 8 Ratten geprüft im Vergleich zu freiem Aldosteron in Dosen von 0,01; 0,02 und 0,04  $\gamma$  an je 8 Ratten. Es war in beiden Dosen wirksam. 1  $\gamma$  Aldosteron entsprach 136  $\gamma$  Diacetyldosteron (FL<sup>1</sup>) ( $P = 0,05$ ):73—200). Dies stimmt gut mit dem von *Mason* u. Mitarb.<sup>c</sup>) gefundenen Wert von 100 überein.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt, Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB), bei Herrn *A. Peisker*, Brugg (A.P.) sowie im Mikrolabor der CIBA-Aktiengesellschaft (Leitung Dr. *H. Gysel*) (Gy) ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Die Bestimmung von Aldosteron, seine Isolierung in Kristallen und seine Eigenschaften werden beschrieben.

The Middlesex Hospital Medical School, London W. 1,  
Forschungslaboratorien der CIBA-Aktiengesellschaft, Basel,  
Organisch-chemische Anstalt der Universität, Basel.

## 139. Die Konstitution des Aldosterons.

### Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

92. Mitteilung<sup>2</sup>)<sup>3</sup>)

von **S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw,**  
**O. Schindler und T. Reichstein.**

(26. IV. 54.)

Über die Isolierung<sup>b</sup>)<sup>c</sup>) und Konstitutionsermittlung<sup>d</sup>) des Aldosterons<sup>d</sup>)<sup>e</sup>) ist in vorläufigen Mitteilungen berichtet worden. Einzelheiten über die Isolierung, die Eigenschaften und einige Derivate dieses Hormons sind in der 91. Mitteilung dieser Reihe angegeben worden. Hier wird über die Resultate der Konstitutionsermittlung eingehender berichtet.

Die Analyse<sup>e</sup>) des Aldosterons passte auf die Formel  $C_{21}H_{30}O_5 \pm H_2$ , wobei sich  $C_{21}H_{28}O_5$  durch Abbau als richtig erwies<sup>4</sup>). Aldosteron zeigte im UV. die für  $\Delta^4$ -3-Ketosteroide typische Absorption<sup>a</sup>)<sup>b</sup>)<sup>e</sup>). Ausserdem besass es stark reduzierende Eigenschaften und lieferte mit Na-Wismutat ein Mol Formaldehyd<sup>a</sup>)<sup>e</sup>), was für das Vorliegen einer Ketolgruppe  $-CO-CH_2OH$  spricht. Die *Porter-Silber-Reaktion*<sup>5</sup>) fiel

<sup>1</sup>) Fiducial Limits ( $P = 0,05$ ) = Fiduzialgrenzen in  $\gamma$  Cortexon entspr. 1  $\gamma$  Aldosteron.

<sup>2</sup>) 91. Mitt.<sup>e</sup>).

<sup>3</sup>) Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

<sup>4</sup>) Wegen der Kostbarkeit des Materials konnten von den hier genannten Stoffen nur wenige der Verbrennungsanalyse unterzogen werden. Aus demselben Grunde musste von Doppelbestimmungen abgesehen werden.

<sup>5</sup>) *C. C. Porter & R. H. Silber*, J. Biol. Chem. **185**, 201 (1950).

dagegen negativ aus<sup>a)</sup>e). Corticoide mit Dioxyacetongruppierung (wie Cortison etc.) reagieren bei dieser Farbreaktion soweit bekannt positiv.

Analyse und die genannten Eigenschaften sprachen stark dafür, dass Aldosteron wie die anderen bekannten biologisch wirksamen Corticoide ein Derivat des Cortexons<sup>1)</sup> darstellt. Da Diacetylaldosteron nach dem IR.-Spektrum<sup>a)</sup>e) keine HO-Gruppe enthielt, muss freies Aldosteron zwei relativ leicht acetylierbare HO-Gruppen besitzen. Für die Konstitutionsermittlung war es vor allem wichtig, Reaktionen zu finden, die es gestatten, mit relativ kleinen Substanzmengen das Vorliegen des Steringerüsts und die Verteilung der O-Atome mit Sicherheit zu beweisen. Die folgenden Umsetzungen erwiesen sich dafür geeignet.

Abbau von Aldosteron mit  $\text{NaJO}_4$ <sup>2)</sup> in wässrigem Methanol lieferte neben Formaldehyd höchstens Spuren saurer Anteile. Als Hauptprodukt entstand in recht glatter Reaktion ein hochschmelzender Neutralstoff (Nr. 874), der sich für die weitere Konstitutionsermittlung als besonders nützlich erwies. Er zeigte ausgezeichnetes Kristallisationsvermögen und war im Hochvakuum unzersetzt sublimierbar. Diese Eigenschaften, zusammen mit der Tatsache, dass alle anderen bekannten reduzierenden Corticoide beim Abbau mit  $\text{NaJO}_4$  quantitativ in Säuren<sup>3)</sup> übergehen, erlaubte es, Subst. Nr. 874 auch aus den allerletzten, sehr unreinen Mutterlaugen des Aldosterons zu gewinnen, die nur noch wenige Prozent davon enthielten. Da aber gewichtsmässig relativ viel solcher Mutterlaugen vorhanden waren, gelang es, genügend Subst. Nr. 874 daraus zu isolieren, um den ganzen Abbau damit durchzuführen. Derselbe Stoff wurde in wenig schlechterer Ausbeute auch aus Aldosteron mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig erhalten. Die Analysenwerte passten auf die Formel  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4 \pm \text{H}_2$ , wobei sich durch Abbau wieder die wasserstoffärmere Formel als richtig erwies<sup>4)</sup>. Das IR.-Spektrum in  $\text{CHCl}_3$  (vgl. Fig. 1) zeigte als wichtigste Befunde eine starke Bande bei 5,62  $\mu$ , wie sie für  $\gamma$ -Lactone charakteristisch ist, sowie Abwesenheit einer freien HO-Gruppe. Ausserdem besass der Stoff, wie erwartet, keine reduzierenden Eigenschaften mehr. Unter der Annahme, dass Aldosteron ein Derivat des Cortexons mit der Teilformel XX darstellt, wäre beim Abbau mit  $\text{NaJO}_4$  eine Carbonsäure XXI zu erwarten. Wenn an Stelle von dieser ein  $\gamma$ -Lacton

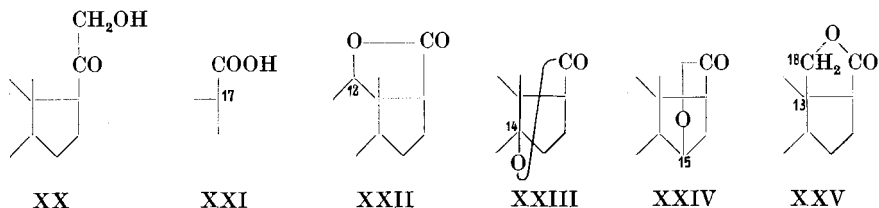
<sup>1)</sup> Cortexon = 11-Desoxycorticosteron; vgl. Helv. **34**, 1680, Regel 4.2 (1951).

<sup>2)</sup> An Stelle der sonst bei Corticoiden meist verwendeten  $\text{HJO}_4$  benützten wir das Na-Salz, weil Aldosteron gegen Säuren, besonders in Methanol, sehr empfindlich ist<sup>e)</sup>.

<sup>3)</sup> Vgl. T. Reichstein & C. W. Shoppee, Vitamines and Hormones I, 345 (Academic Press Inc. New York 1943). Für den Abbau wurde früher fast stets freie  $\text{HJO}_4$  verwendet. Wir überzeugten uns<sup>f)</sup>, dass Cortison auch mit  $\text{NaJO}_4$  glatt die entsprechende Säure liefert.

<sup>4)</sup> Um unnötige Verluste zu vermeiden, wurde die Analyse mit nur knapp 1,5 mg ausgeführt. Es war hier aber vor allem wichtig, den O-Gehalt festzustellen, wofür das Resultat eindeutig genügte.

entsteht, sollte Aldosteron die zweite HO-Gruppe in  $\gamma$ -Stellung, von C-20 an gezählt, besitzen, wofür nur die C-Atome 12, 14, 15 oder 18 zur Verfügung stehen. Dies führt zu den vier Teilformeln XXII–XXV



für Subst. Nr. 874<sup>1)</sup>. Aldosteron muss unter den genannten Voraussetzungen daher diese HO-Gruppe an C-12, C-14, C-15 oder C-18 enthalten.

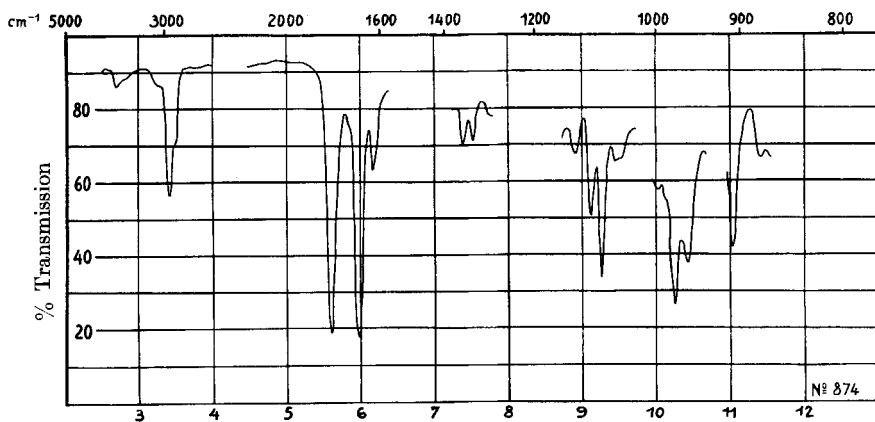


Fig. 1.

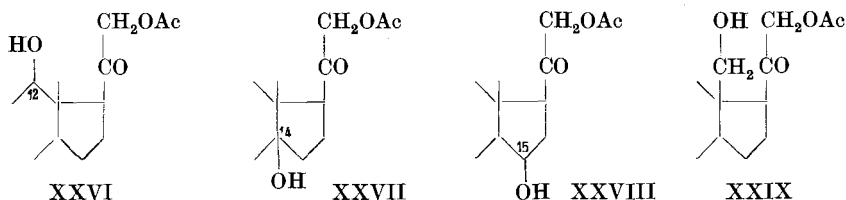
IR.-Absorptionsspektrum<sup>2)</sup> von Präparat Nr. 874. Ca. 0,2 mg in 3 Tropfen Chloroform. Kompensiert mit reinem Chloroform. Mikrozele von 1 mm Schichtdicke.

Um zwischen den 4 Teilformeln eine Auswahl zu treffen, wurde 21-Monoacetyl-aldosteron (Nr. 867) einer Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  unterworfen. Da 21-Monoacetyl-aldosteron mit Na-Wismutat keinen

<sup>1)</sup> Von diesen ist XXII unwahrscheinlich, da 12-Oxy-ätiansäuren nach *M. Sorkin & T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 1218 (1946), nur dann leicht Lactone bilden, wenn sich beide Substituenten (an C-12 und an C-17) in  $\alpha$ -Stellung befinden. Eine  $17\alpha$ -Stellung der Ketolseitenkette im Aldosteron ist aber sehr unwahrscheinlich, da  $17\alpha$ -Steroide sich bisher stets als biologisch unwirksam erwiesen haben. Auch Formel XXIII kam wegen Bildung und Eigenschaften des Diacetyl-aldosterons kaum in Frage. Ebenso war eine Formel, in der beide Substituenten an C-12 und C-17 in  $\beta$ -Stellung und die Methylgruppe an C-13 dafür in  $\alpha$ -Stellung vorliegen, äusserst unwahrscheinlich.

<sup>2)</sup> Die in den Fig. 1–7 wiedergegebenen IR.-Absorptionsspektren wurden unter der Leitung von Herrn Dr. *E. Ganz* mit einem *Perkin-Elmer*-Spectrophotometer, Modell 21, aufgenommen mit NaCl-Prisma, Auflösungsstufe (resolution) 4, Ansprechgeschwindigkeit (response) 1/1, Registriergeschwindigkeit (speed) 2 min/ $\mu$ , Dämpfung (suppression) 1.

Formaldehyd liefert<sup>e</sup>), muss es in der Ketolgruppe acetyliert sein und nach obigen Befunden eine der vier Teilformeln XXVI–XXIX besitzen. Von diesen sollte XXVII von  $\text{CrO}_3$  nicht angegriffen werden, XXVI und XXVIII sollten Ketone und XXIX eine Säure liefern.



Das Experiment gab keine sauren Anteile, aber in guter Ausbeute einen Neutralstoff (Nr. 875), der noch stark reduzierende Eigenschaften besass, die 21-Acetoxygruppe also noch enthielt. Im IR.-Spektrum in  $\text{CHCl}_3$  (vgl. Fig. 2) zeigte er neben den erwarteten Banden<sup>1)</sup> überraschenderweise wieder eine sehr starke Bande bei  $5,61 \mu$  und enthielt demnach wiederum eine  $\gamma$ -Lactongruppe. Da eine solche

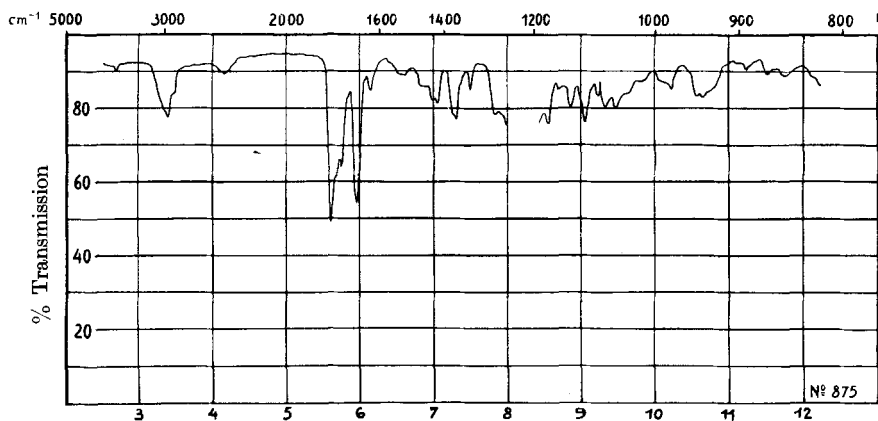


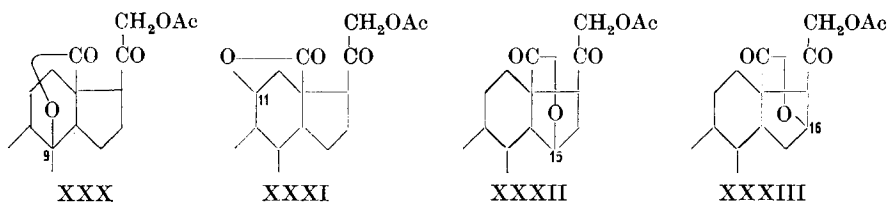
Fig. 2.

IR.-Absorptionsspektrum von Präparat Nr. 875. Ca. 0,15 mg in 2 Tropfen Chloroform, kompensiert mit reinem Chloroform, Mikrozelle von 0,2 mm Schichtdicke.

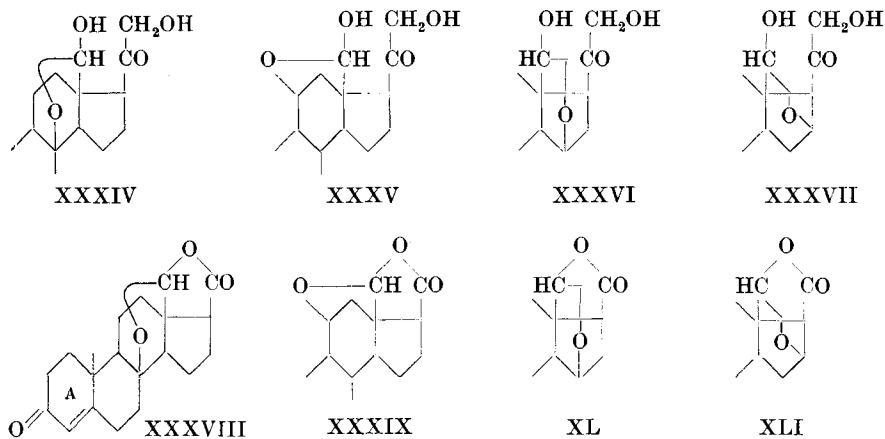
Gruppierung nach den IR.-Spektren in Aldosteron, Mono- und Diacetylaldosteron nicht enthalten war, muss sie bei der Dehydrierung von 21-Monoacetylaldosteron entstanden sein und zwar ohne Beteiligung des C-20 Atoms der Ketolgruppe, da diese im Oxydationsprodukt (Nr. 875) noch enthalten war. Es bleibt somit zunächst zu entscheiden, aus welchem C-Atom die Carbonylgruppe dieses Lactons entstanden ist. C-19 scheidet aus, da es von der oben genannten HO-Gruppe (in 12-, 14-, 15- oder 18-Stellung), die sich im

<sup>1)</sup>  $\Delta^4$ -3-Ketogruppe ( $5,96$  und  $6,15 \mu$ ), 21-Acetoxy-20-ketogruppe ( $5,68$  und  $5,75 \mu$ ).

Aldosteron und somit auch im 21-Monoacetyl-aldosteron in freier Form vorfinden muss, zu weit entfernt ist, um ein  $\gamma$ -Lacton bilden zu können. Wenn man nicht ganz unwahrscheinliche Hypothesen machen will, bleibt als einzig überzeugende Erklärung die Annahme, dass es sich um das C-Atom Nr. 18 handelt. Wenn dieses bei der Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  in die CO-Gruppe eines  $\gamma$ -Lactons übergeht, muss sich in  $\gamma$ -Stellung davon eine HO-Gruppe befinden. Es ergeben sich für diese somit die Stellen 9, 11, 15 oder 16, was zu den Teilformeln XXX–XXXIII für Subst. Nr. 875 führt<sup>1)</sup>.



Um auf Grund dieser Resultate begründete, wenn auch hypothetische Teilformeln für Aldosteron und die Subst. Nr. 874 aufzustellen, ist es aber noch nötig zu berücksichtigen, dass Aldosteron nicht drei, sondern nur zwei freie HO-Gruppen besitzt und Subst. Nr. 874 gar keine solche enthält. Eine zwanglose Erklärung ist nur möglich, wenn man annimmt, dass eine dieser zwei freien HO-Gruppen in Aldosteron in Form einer cyclischen Halbacetalform vorliegt; und zwar kann es sich dabei nur um diejenige an C-18 handeln. Für Aldosteron kommen demnach in erster Linie die 4 Teilformeln XXXIV–XXXVII in Frage und für Subst. Nr. 874 dementsprechend die Formeln XXXVIII–XLI.



<sup>1)</sup> In allen diesen Teilformeln müsste der lactonisierten HO-Gruppe  $\beta$ -Konfiguration zukommen, damit eine Lactonbildung möglich ist.

Um zwischen diesen 4 Formeln zu entscheiden, und zur Sicherstellung der bisher unbewiesenen Annahme, dass Aldosteron ein normales Steringerüst besitzt, schien es aussichtsreich<sup>1)</sup>, Subst. Nr. 874 zu hydrieren<sup>2)</sup> und die potentielle Aldehydgruppe des Hydrierungsproduktes durch Erhitzen mit Hydrazin und Na-Methylat nach *Wolff-Kishner* zu reduzieren. Bei Vorliegen einer der vermuteten Strukturen (XXXVIII–XLI) sollte dabei eine 3,  $\alpha$ -Dioxy-ätiansäure<sup>3)</sup> resultieren, die mit authentischem Material zu identifizieren wäre.

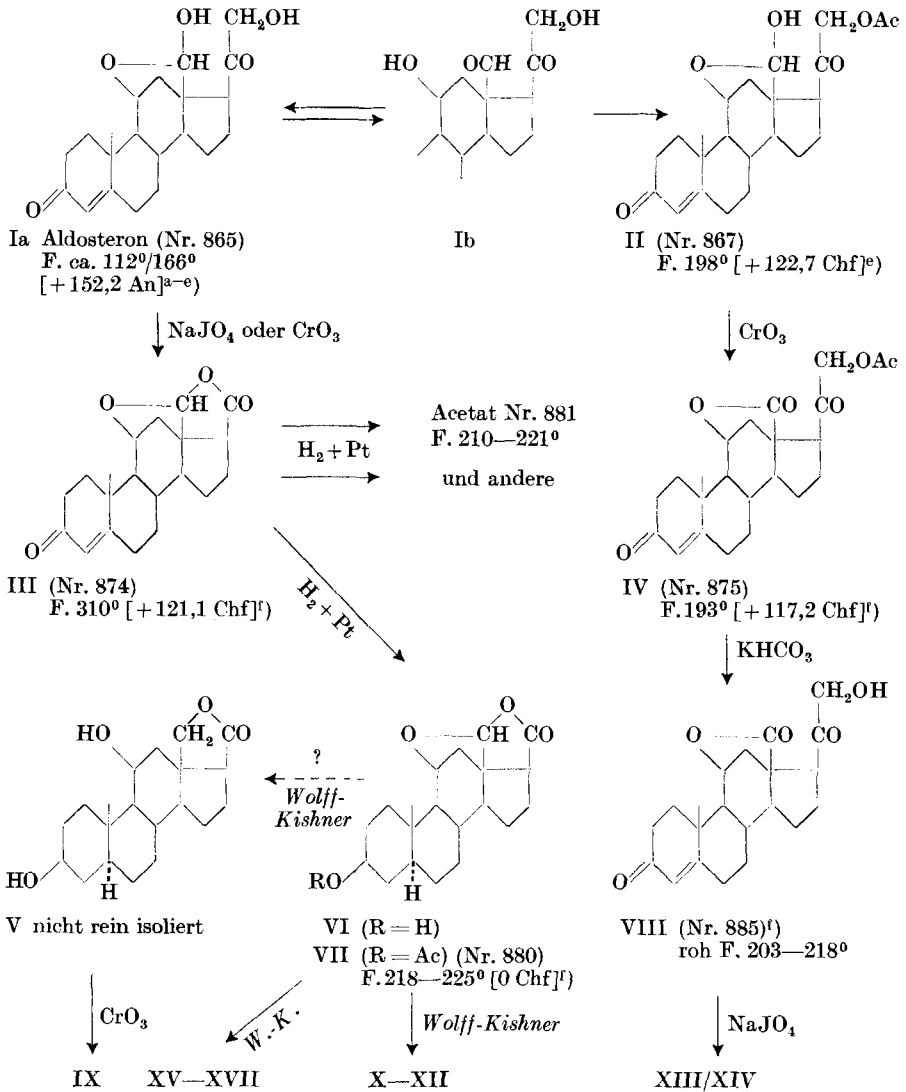
Die Hydrierung von Subst. Nr. 874 mit Pt in Eisessig verlief glatt unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff, das Reaktionsprodukt war aber wie erwartet ein Gemisch. Im ersten Versuch wurde dieses Gemisch direkt einer *Wolff-Kishner*-Reduktion unterworfen und das Gemisch der Reduktionsprodukte in neutrale (siehe unten) und saure Anteile zerlegt. Aus den sauren Anteilen liess sich eine einheitliche krist. Säure gewinnen, die durch einen krist. Methylester (Nr. 876) und ein krist. Acetat desselben (Nr. 882) charakterisiert wurde. Der Methylester (Nr. 876) gab ferner bei der Dehydrierung mit CrO<sub>3</sub> einen gut krist. Ketoester (Nr. 877). Sowohl die freie Säure wie ihr Methylester und sein Acetylderivat schmolzen fast gleich wie 3 $\beta$ , 11 $\beta$ -Dioxy-5 $\alpha$ -ätiansäure (XV) bzw. ihr Methylester XVI und das Acetat desselben (XVII). Dasselbe traf für den Ketoester Nr. 877 und 3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII) zu. Die Mischproben gaben aber deutliche Depressionen und die spez. Drehungen waren merklich verschieden. Es zeigte sich dann schliesslich, dass die krist. Säure gar keine einfache Dioxy-ätiansäure war und ihre Entstehung nicht einer normalen *Wolff-Kishner*-Reduktion verdankt; ihre Konstitution wird weiter unten besprochen. Hierauf wurden die amorphen Mutterlaugen der genannten krist. Säure untersucht. Um die Trennung dieses Gemisches zu erleichtern, wurde es mit Diazomethan methyliert, das Gemisch der Methylester mit überschüssigem CrO<sub>3</sub> in Eisessig dehydriert und die so erhaltenen Ketoester an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Dabei gelang es, in schlechter Ausbeute zwei krist. Stoffe (Nr. 878 und Nr. 879) zu isolieren. Die Konstitution von Nr. 879 wurde nicht aufgeklärt. Dagegen erwies sich Nr. 878 nach Smp., Mischprobe und IR.-Spektrum (vgl. die Kurven 878 und XVIII in Fig. 5) als identisch mit dem bekannten 3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII). Damit war bewiesen, dass Aldosteron ein nor-

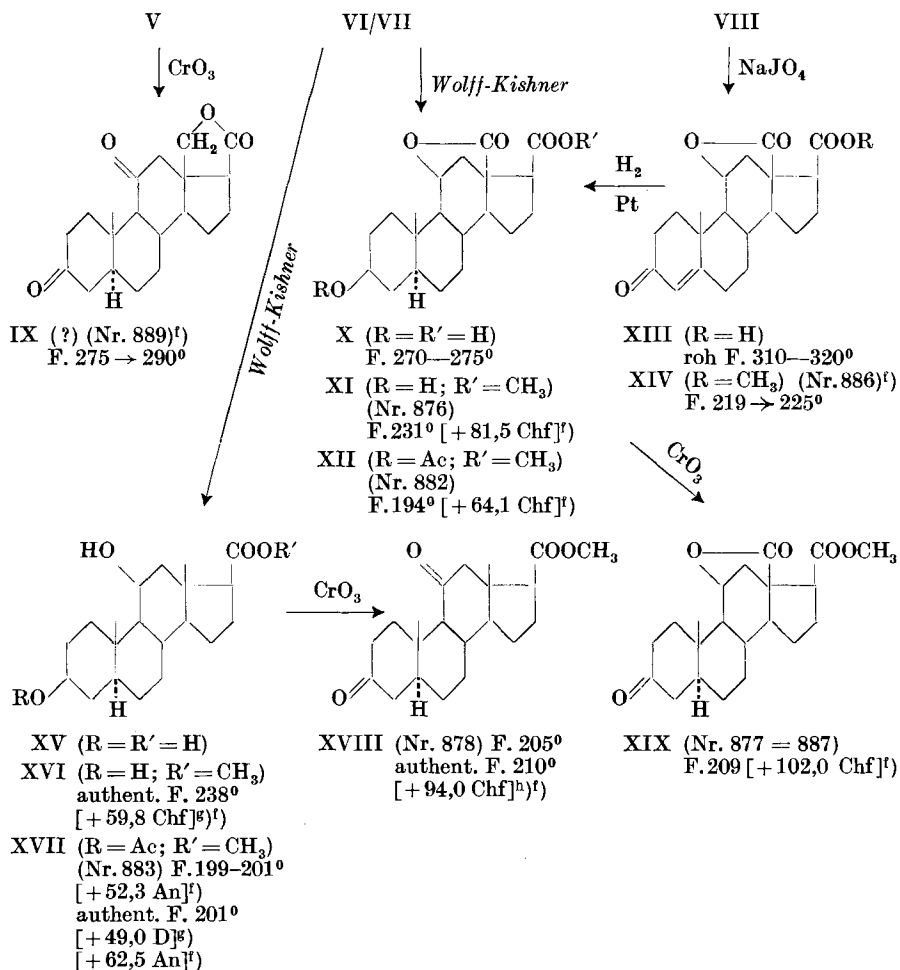
<sup>1)</sup> Bei Vorliegen des 16-Oxyderivats XLI wäre diese Reaktionsfolge wahrscheinlich nicht erfolgreich gewesen. Wir stellten fest, dass 3 $\beta$ -Oxy-ätiadien-(5,16)-säure unter den Bedingungen der *Wolff-Kishner*-Reduktion weitgehend verändert wird. Die Zusammensetzung des entstehenden Gemisches wurde bisher noch nicht genau aufgeklärt. Ein 16-Oxy-ätiansäure-Derivat dürfte sich vermutlich ähnlich verhalten.

<sup>2)</sup> Um den Ring A gegen die folgende *Wolff-Kishner*-Reduktion stabil zu machen.

<sup>3)</sup> Bei Teilformel XXXIX wäre eine Dioxy-5 $\alpha$ -ätiansäure zu erwarten, da  $\Delta^4$ -3-Ketosteroidoide mit 11 $\beta$ -Oxygruppe bei der Hydrierung vorwiegend 5 $\alpha$ -Derivate liefern.

males Steringerüst besitzt, dass es in 3- und 11-Stellung mit Sauerstoff substituiert ist und dass es die Ketolgruppe an C-17 trägt. Nach den oben dargelegten Überlegungen muss es daher Formel I besitzen. Ebenso folgt daraus Formel III für Subst. Nr. 874 und Formel IV für Subst. Nr. 875. Das bei der Hydrierung von III entstehende Gemisch muss als eine seiner Hauptkomponenten das Lacton VI mit 5 $\alpha$ -Konfiguration enthalten haben. Die bei der *Wolff-Kishner*-Reaktion in relativ grosser Menge gebildete krist. Säure besitzt, wie weiter unten gezeigt wird, die Formel X.





Ac = CH<sub>3</sub>CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton, Chf = Chloroform, D = Dioxan.

a) S. A. Simpson & J. F. Tail, *Memoirs of the Soc. for Endocrinol.*, Nr. 2, 9 (1953).

b) S. A. Simpson, J. F. Tail, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw & T. Reichstein, *Exper.* **9**, 333 (1953).

c) V. R. Mattox, H. L. Mason & A. Albert, *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic* **28**, 569 (1953); V. R. Mattox, H. L. Mason, A. Albert & C. F. Code, *Am. Soc.* **75**, 4869 (1953).

d) S. A. Simpson, J. F. Tail, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein, *Exper.* **10**, 132 (1954).

e) S. A. Simpson, J. F. Tail, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **37**, 1163 (1954).

f) Exp. Teil dieser Arbeit.

g) J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **30**, 205 (1947).

h) H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie & E. C. Kendall, *J. Biol. Chem.* **120**, 719 (1937).



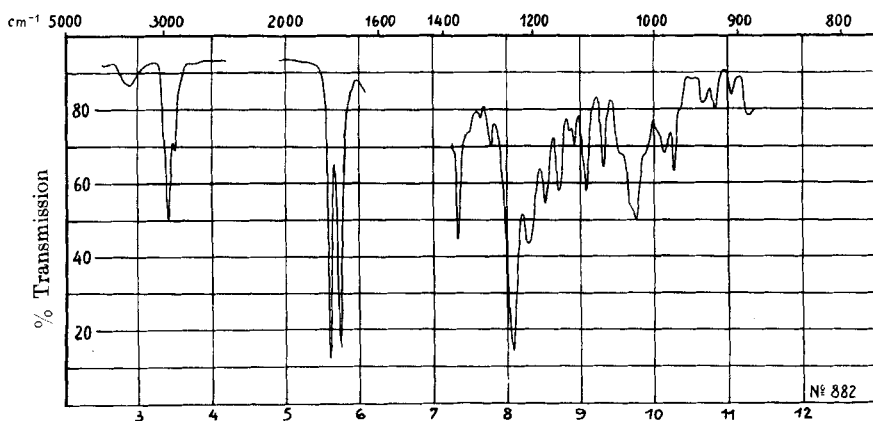


Fig. 3.

IR.-Absorptionsspektrum von Präparat Nr. 882. Ca. 0,3 mg in 3 Tropfen  $\text{CS}_2$ , kompensiert mit reinem  $\text{CS}_2$ , Mikrozelle von 1 mm Schichtdicke.

Unbefriedigend war bei dem beschriebenen Versuch die schlechte Ausbeute an XVIII (ca. 0,3 mg aus 10 mg Subst. Nr. 874 (III)). Obwohl die verwendete Subst. Nr. 874 nach den üblichen Kriterien rein war, blieb die Möglichkeit bestehen, dass sie irgendeine Verunreinigung enthalten hatte, die zur Bildung der kleinen Menge von XVIII hätte führen können. Der Abbau von Nr. 874 (III) wurde daher mit den folgenden Modifikationen wiederholt. Eine grössere Probe (26,4 mg) des aus Subst. Nr. 874 durch Hydrierung erhaltenen Gemisches wurde zunächst acetyliert (28,3 mg), worauf sich teilweise durch direkte Kristallisation, teilweise nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ca. 10 mg eines einheitlichen Acetats Nr. 880 (VII) sowie eine Spur eines krist. Nebenproduktes (Nr. 881) isolieren liessen. Sowohl die reine Subst. Nr. 880 (VII) wie alle Mutterlaugen der zwei krist. Stoffe wurden (jeder Teil für sich) nach *Wolff-Kishner* reduziert. Bei der Aufarbeitung wurden aus der alkalischen Lösung zunächst die Neutralstoffe (Verunreinigungen?) ausgeschüttelt. Das nach Ansäuern erhaltene Material wurde anschliessend nochmals in neutrale Anteile (= Lactone) und Säuren getrennt.

Aus 9,2 mg der reinen Subst. Nr. 880 (VII) wurden dabei 0,8 mg Neutralstoffe, 1,4 mg Lactone und 6,7 mg Säuren erhalten. Letztere waren wieder ein Gemisch, kristallisierten aber weitgehend. Da dieses Mal eine gute Trennung durch Kristallisation nicht gelang, wurden sie mit Diazomethan methyliert, worauf sich 1,7 mg des oben erwähnten Methylesters Nr. 876 (XI) rein abscheiden liess, der bei Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  wieder Subst. Nr. 877 (XIX) und bei der Acetylierung Subst. Nr. 882 (XII) lieferte. Die Mutterlaugen (5,1 mg) wurden acetyliert und das Gemisch der Acetylderivate (5,6 mg) an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Ausser einem Nebenprodukt (Nr. 884), dessen

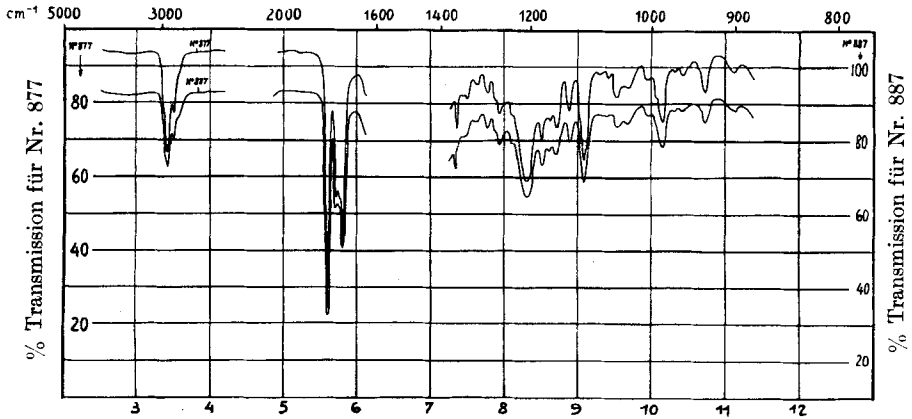


Fig. 4.

IR.-Absorptionsspektrum von Präparat Nr. 877 und Präparat Nr. 887. Je 0,15–0,20 mg in 3 Tropfen  $\text{CS}_2$ , kompensiert mit reinem  $\text{CS}_2$ , Mikrozelle von 1 mm Schichtdicke.

Natur nicht aufgeklärt wurde, und weiteren 1,02 mg Acetylmethylester Nr. 882 (XII) wurden 0,97 mg eines Acetylderivats Nr. 883 isoliert, das sich nach Smp., Mischprobe und IR.-Spektrum (vgl. Kurven 883 und XVII in Fig. 6) mit dem bekannten 3 $\beta$ -Acetoxy-11 $\beta$ -oxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVII) als identisch erwies.

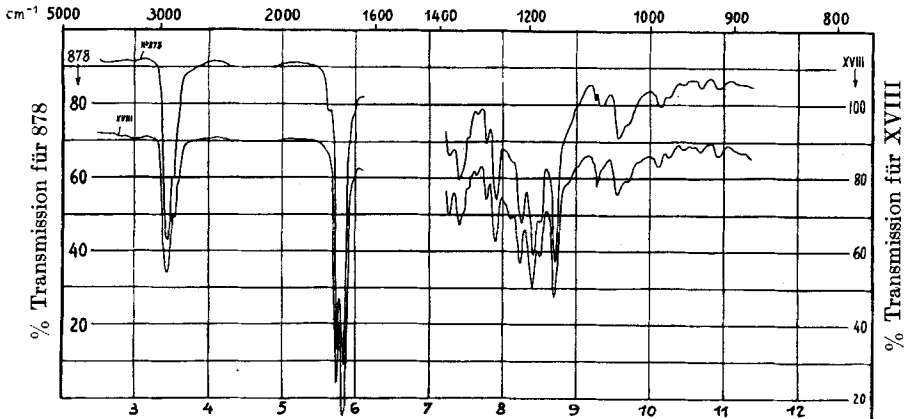


Fig. 5.

IR.-Absorptionsspektren von Präparat Nr. 878 und 3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII). Je ca. 0,2 mg in 3 Tropfen  $\text{CS}_2$ , kompensiert mit reinem  $\text{CS}_2$ , Mikrozelle von 1 mm Schichtdicke.

Die analoge Reduktion der 19,1 mg Mutterlaugen von Nr. 880 gab ein ähnliches Resultat. Die sauren Anteile (8,5 mg) wurden methyliert, acetyliert und an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf sich noch etwas krist. Nr. 882 (XII) sowie 1,43 mg Nr. 883 isolieren liessen.

Dies erlaubte auch die Bestimmung der Drehung von Nr. 883, die innerhalb der Fehlergrenze gut mit authentischem XVII übereinstimmte. Wir glauben, die Konstitution und Konfiguration des Aldosterons im Sinne der Formel I durch diesen Versuch bewiesen zu haben. Es war jedoch noch erwünscht, auch die Konstitution der wichtigsten Nebenprodukte, die beim genannten Abbau isoliert worden waren, abzuklären.

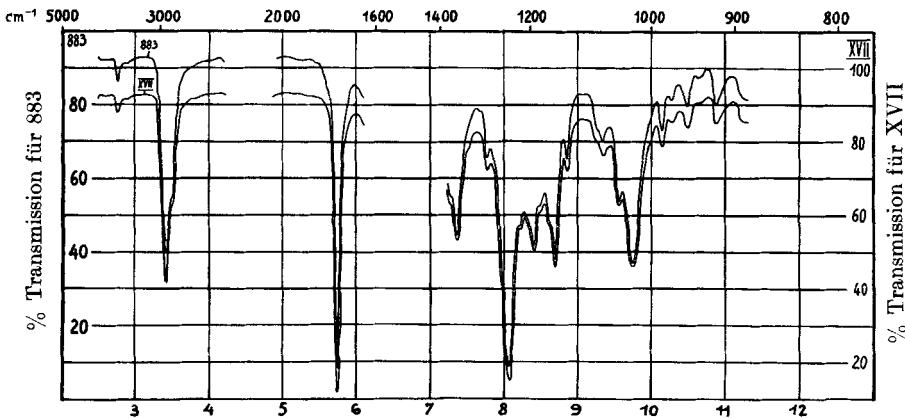


Fig. 6.

IR.-Absorptionsspektren von Präparat Nr. 883 und  $3\beta$ -Acetoxy- $11\beta$ -oxy- $5\alpha$ -ätiansäuremethylester (XVII). Je ca. 0,25 mg in 3 Tropfen  $\text{CS}_2$ . Kompensiert mit reinem  $\text{CS}_2$ . Mikrozelle von 1 mm Schichtdicke.

Die Ausbeute an XV bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion war schlecht, weil die Reaktion nicht einheitlich verlief und die Trennung der Gemische verlustreich war. Die Untersuchung der dabei in reichlicher Menge gebildeten krist. Säure zeigte, dass ihr die Formel X zukommt. Ihr Methylester (Nr. 876) besitzt somit Formel XI, dessen Acetylderivat (Nr. 882) Formel XII und der Ketoester (Nr. 877) Formel XIX. Damit stimmen nicht nur die Analysenwerte von Nr. 882 und Nr. 877 überein, sondern auch die IR.-Spektren (vgl. die Kurven 882 und 877 in Fig. 3 und 4), die beide die typische starke Bande von  $\gamma$ -Lactonen aufweisen. Ein zusätzlicher Beweis liess sich wie folgt erbringen. Das aus 21-Monoacetylaldosteron (II) mit  $\text{CrO}_3$  erhaltene Lacton Nr. 875 (IV) wurde mit  $\text{KHCO}_3$  in wässrigem Methanol verseift<sup>1)</sup> und das so erhaltene freie Ketol Nr. 885 (VIII) in roher Form mit  $\text{NaJO}_4$  abgebaut. Neben neutralen Anteilen wurde dabei eine krist. Säure XIII erhalten, die mit Diazomethan in den gut krist. Methylester Nr. 886 (XIV) übergeführt wurde. Dieser gab nach Hydrierung mit Pt in Eisessig ein Kristallisat, das nach Smp. und Mischprobe mit Nr. 876 (XI) identisch war und nach Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  einen

<sup>1)</sup> J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 21, 1181 (1938).

Ketoester Nr. 887 lieferte, der nach Smp., Mischprobe und IR.-Spektrum (Kurve 887 in Fig. 4) sich als identisch mit Nr. 877 (XIX) erwies.

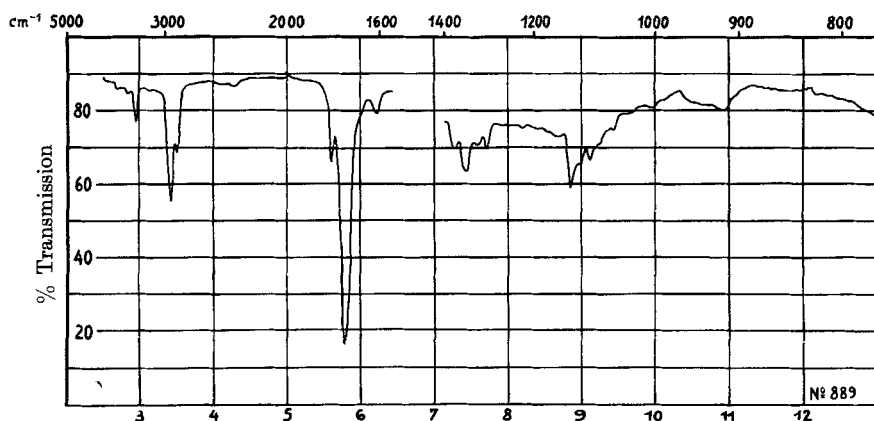


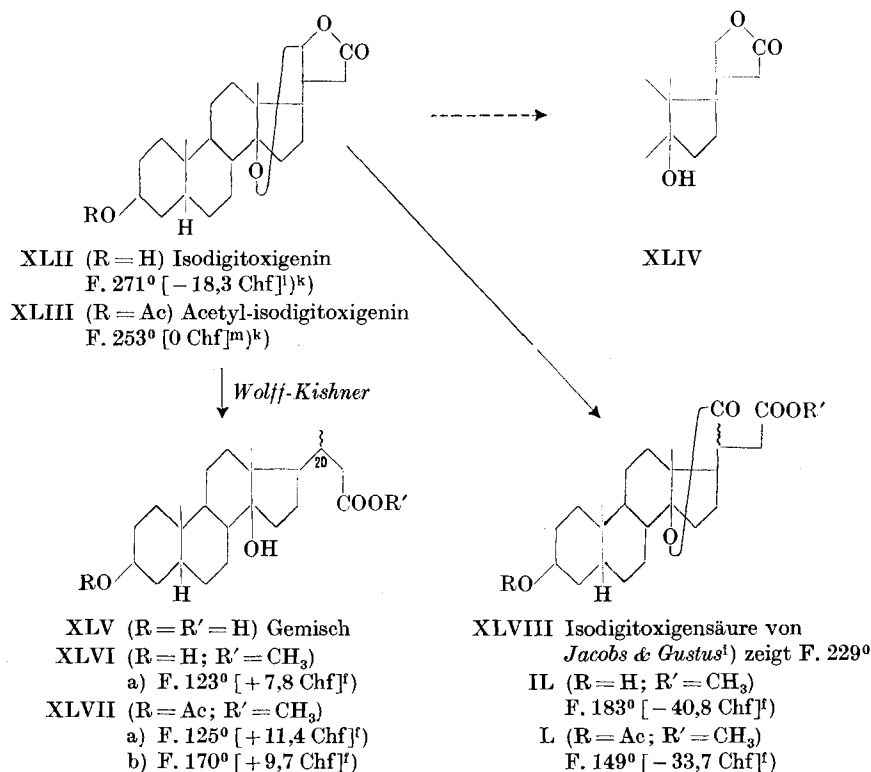
Fig. 7.

IR.-Absorptionsspektrum von Präparat Nr. 887. Ca. 0,15 mg in Chloroform, kompensiert mit reinem Chloroform. Mikrozelle von 1 mm Schichtdicke.

Es steht somit fest, dass beim Erhitzen des Lactons VI mit Hydrazin und Na-Äthylat nach *Wolff-Kishner* neben der erwarteten Reduktion der potentiellen Aldehydgruppe auch eine Oxydation derselben stattfindet. Wir vermuten, dass diese Nebenreaktion einer Disproportionierung nach *Canizzaro* entspricht. Wenn dies zutrifft, sollte dabei aus VI nicht nur X, sondern auch das Lacton V entstehen. Wie erwähnt, wurde bei der Reaktion auch tatsächlich eine merkliche Menge Material (Gemisch) erhalten, das sich wie ein Lacton verhielt. In einem Versuch, ein einheitliches Präparat daraus zu isolieren, haben wir dieses Material mit  $\text{CrO}_3$  dehydriert und anschliessend an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Es wurden wenig Kristalle (Nr. 889) erhalten, die im IR.-Spektrum (Fig. 7) die für  $\gamma$ -Lactone typische Bande aufwiesen. Die Ausbeute war aber so gering, dass nicht mit Sicherheit entschieden werden konnte, ob wirklich das erwartete Diketolacton (IX) vorlag.

Aus diesem Grunde wurden noch Modellversuche mit Isodigitoxigenin (XLII) und Acetyl-isodigitoxigenin (XLIII) durchgeführt. Diese Stoffe enthalten eine potentielle Aldehydgruppe in ähnlicher Bindung, wie sie im Lacton VI und seinem Acetat VII vorliegt. Erhitzen von XLII oder XLIII mit Hydrazin und Na-Äthylat gab praktisch weder neutrale Anteile noch Lactone (XLIV), sondern ein Gemisch von Säuren, aus dem sich nach Methylierung und Chromatographie zwei reine Ester XLVIA und IL isolieren liessen. Besser gelang die Trennung der Ester nach Acetylierung, worauf sich drei reine acetylierte Ester fassen liessen. Zwei davon gaben Analysen-

resultate, die mit der Formel  $C_{26}H_{42}O_5$  übereinstimmten. Wir vermuten, dass es sich um die zwei am C-20 isomeren Ester der Formel XLVII handelt, was noch geprüft werden soll. Die Analysenwerte des dritten Esters passten auf die Formel  $C_{26}H_{38}O_6$ . Wir glauben, dass es sich um den acetylierten Methylester der Isodigitoxigensäure XLVIII von *Jacobs & Gustus*<sup>1)</sup> oder ein Isomeres davon handelt, was ebenfalls noch genau untersucht werden soll<sup>1)</sup>. Jedenfalls scheint auch hier bei der *Wolff-Kishner*-Reaktion neben der Reduktion auch eine Oxydation der potentiellen Aldehydgruppe stattgefunden zu haben. Nur konnte das erwartete Lacton XLIV nicht gefunden werden.



Die relativ guten Ausbeuten an III und an IV bei der Dehydrierung von I bzw. II mit  $CrO_3$  sprechen dafür, dass sowohl Aldosteron (I) als auch sein 21-Monoacetat (II) in Lösung vorwiegend in der Cyclohalbacetalform (entspr. den Formeln Ia und II) vorliegen.

<sup>1)</sup> *W. A. Jacobs & E. L. Gustus, J. Biol. Chem.* **78**, 573 (1928).

<sup>k)</sup> *N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein, Pharm. acta Helv.* **24**, 113 (1949).

<sup>m)</sup> *A. Windaus & G. Stein, B.* **61**, 2436 (1928).

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Der Stoff wurde inzwischen mit Acetyl-isodigitoxigensäure-methylester identifiziert.

Bei Vorwiegen der offenkettigen Formeln mit freier Aldehydgruppe (entspr. Ib) sollte aus Aldosteron vorwiegend die 11-Keto-18,20-disäure und aus dem 21-Monoacetat die 11-Keto-18-säure entstehen, da 11  $\beta$ -Oxy-steroiden durch  $\text{CrO}_3$  bekanntlich äusserst rasch zu 11-Ketosteroiden dehydriert werden. Wie früher erwähnt<sup>1)</sup> sind die IR.-Spektren von Aldosteron ebenfalls nur mit der Cyclohalbacetalform Ia gut erklärbar, wobei zusätzlich eine Assoziation durch H-Brücken anzunehmen ist. Auch das IR.-Spektrum des Monoacetats ist gut mit der Cyclohalbacetalform II verträglich.

Wir danken der *N. V. Organon*, Oss, Holland, für die Förderung dieser Arbeit sowie Sir *Charles Dodds* und Herrn Prof. *J. E. Roberts* für ihr wohlwollendes Interesse und den Herren Dr. *E. Ganz* (Basel) und Dr. *A. E. Kellie* (London) für Aufnahmen und Diskussionen der IR.-Spektren.

### Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Drehungen im *Schmidt & Haensch*- sowie *Hilger-Standard*-Polarimeter mit mindestens je 5–7 Ablesungen für Nullpunkt und Substanzmuster. Einzelablesung auf  $\pm 0,01^\circ$ . Bei allen Mikroanalysen wurde vor und nach der Substanzprobe eine Testsubstanz verbrannt, die richtige Werte lieferte. Alle Lösungsmittel wurden frisch destilliert. Papierchromatographie auf Streifen<sup>2)</sup> im B<sub>2</sub>- oder C-System von *I. E. Bush*, *Biochem. J.* 50, 370 (1952), oder Propylenglykol-Toluol nach *A. Zaffaroni*<sup>1)</sup> wie jeweils angegeben.

**Abbaureaktionen mit  $\text{NaJO}_4$ .** Für den Abbau wurde die folgende Lösung bereitet: 1,25 g  $\text{Na}_2\text{H}_3\text{JO}_4$  (käufliches Salz) wurden in einem Messkolben in ca. 70 cm<sup>3</sup> dest. Wasser suspendiert, dann wurde 2-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ca. 3,85 cm<sup>3</sup>) unter Schütteln zugetropft, bis das Salz gelöst und ein pH = 3–4 erreicht war, und schliesslich mit Wasser auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Gehalt somit ca. 10 mg  $\text{NaJO}_4$  per cm<sup>3</sup>.

**Abbau von Cortison.** 20 mg Cortison wurden in 2 cm<sup>3</sup> reinstem Methanol gelöst, mit 3,6 cm<sup>3</sup> obiger  $\text{NaJO}_4$ -Lösung versetzt und 3 Std. bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum bei 20° entfernt, mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH = ca. 1 gebracht und dreimal mit je 10 cm<sup>3</sup> Chloroform-Äther ausgeschüttelt. Die übliche Trennung gab nur eine kaum wägbare Spur neutraler Anteile und 19,4 mg Säure. Aus Aceton-Äther Kristalle, Smp. 273–277°. Mit Diazomethan entstand der Methylester Smp. 224–227°, Mischprobe mit 3,11-Diketo-17-oxy-ätien-(4)-säure-methylester ebenso. Verarbeitung der wässerigen Teile wie im folgenden Versuch gab 3 mg Formaldehyd-dimedonverbindung, Smp. 192–194°, Mischprobe ebenso.

**Abbau von Aldosteron.** 7 mg Aldosteronhydrat wurden in 0,7 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit 1,28 cm<sup>3</sup> obiger  $\text{NaJO}_4$ -Lösung versetzt. Bereits nach wenigen Min. begann die Abscheidung von Kristallnadeln. Nach 2 Std. wurde das Methanol im Vakuum bei 20° entfernt. Dann wurde bei 0° mit 2-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  bis zur eben deutlich kongosauren Reaktion versetzt und dreimal mit je 10 cm<sup>3</sup> Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt (Verarbeitung der wässerigen Phase siehe unten). Die drei Auszüge wurden der Reihe nach mit folgenden Lösungen gewaschen: 1 cm<sup>3</sup> Wasser, 1 cm<sup>3</sup> 0,2-n. Sodalösung, 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser, 1 cm<sup>3</sup> Sodalösung und zweimal mit je 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser. Die über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Lösungen gaben beim Eindampfen 6,7 mg neutrale Anteile. Die vereinigten Wasser- und Sodauszüge wurden mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt (Verarbeitung der sauren wässerigen Phase siehe unten). Die mit wenig Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 0,4 mg Säuren (kristallin, aber nicht untersucht).

<sup>1)</sup> *A. Zaffaroni, R. B. Burton & E. H. Keutmann, Science* 111, 6 (1950); *R. B. Burton, A. Zaffaroni & E. H. Keutmann, J. Biol. Chem.* 188, 783 (1951).

Die 6,7 mg Neutralteile gaben aus Aceton-Äther 4,5 mg reines Lacton Nr. 874 (III), Smp. 309–315° (Zers.). Die Mutterlaugen wurden mit analogem Material vereinigt und gaben nach Destillation im Molekularkolben oder nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  noch etwas derselben Kristalle.

Nachweis des Formaldehyds. Die zwei sauren, mit Chloroform-Äther ausgeschüttelten wässrigen Phasen wurden vereinigt, mit Soda auf  $\text{pH} = 5$  gebracht und bei 80 Torr und 60° Badtemperatur bis zur Trockne destilliert. Das Destillat wurde nochmals gleich destilliert. Das so gereinigte Destillat wurde mit 5 mg Dimedon (= Dimethyldihydro-resorcin) und 0,3 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt, 1 Std. auf 100° erhitzt und 12 Std. bei 0° stehengelassen. Es kristallisierten 0,66 mg Nadeln, Smp. 192–194°. Die Mutterlauge wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschene und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Lösung wurde eingedampft und der Rückstand an 0,2 g Mg-Silikat-Kieselgur (Celite Nr. 545) (2:1) chromatographiert. Die mit Benzol eluierten Anteile (0,8 mg) gaben aus Äther-Pentan noch wenig Formaldehyd-dimedonverbindung (Smp. ca. 180°). Die mit Benzol-Äther und reinem Äther eluierbaren Anteile gaben freies Dimedon, Smp. 130–135°.

Die vereinigten Kristalle der Formaldehydverbindung wurden im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 105–115° sublimiert. Das Sublimat gab aus Äther-Pentan farblose Kristalle, Smp. 192–194°. Formaldehyd-dimedon und die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die IR.-Spektren waren gleich.

Abbau von Aldosteron-Mutterlaugen. Für den ersten Versuch diente folgendes Material: Die Fraktionen 29–31 (6 mg), 40–41 (7 mg) sowie die letzten nicht mehr kristallisierenden Mutterlaugen der Fraktionen 30–39 (27 mg) aus zweiter Verteilungschromatographie von NN III Tab. 7° (zusammen 40 mg). Dies wurde mit 29 mg ähnlichem Material aus einer analogen Chromatographie vereinigt.

Diese 69 mg wurden in 6 cm<sup>3</sup> Methanol mit 12 cm<sup>3</sup>  $\text{NaJO}_4$ -Lösung 1 ½ Std. stehengelassen. Aufarbeitung wie oben gab 21 mg Säuren (teilweise krist., nicht untersucht) und 37,8 mg Neutralteile. Letztere gaben aus Aceton-Äther 4,7 mg rohes Lacton Nr. 874, Smp. 285–305° (Zers.).

In einem zweiten Versuch wurde folgendes Material (195 mg) verwendet: Die Fraktionen 24–27, 38 und die Mutterlaugen der Fraktionen 28–37 von NN V°. Dieses lieferte 96 mg Säuren (teilweise krist., aber nicht untersucht) und 76 mg Neutralteile. Letztere gaben aus Aceton-Äther 15 mg Lacton Nr. 874, Smp. 303–312° (Zers.).

Die Mutterlaugen des Lactons Nr. 874 aus diesen zwei Versuchen wurden im Molekularkolben bei 0,02 Torr destilliert. Die bis 195° Badtemperatur übergehenden Anteile wurden verworfen. Das von 195–230° erhaltene Destillat gab aus Aceton-Äther noch ca. 0,7 mg krist. Lacton, Smp. 275–295°. Chromatographie der verbleibenden Mutterlaugen an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (alkalifrei) gab aus den mit Petroläther-Benzol sowie reinem Benzol eluierbaren Anteilen nur noch Spuren des krist. Lactons.

Die nicht ganz reinen Anteile des krist. Lactons wurden im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 210–230° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat gab aus Aceton-Äther sofort reine Kristalle, Smp. 307–311° (Zers.).

Lacton Nr. 874 (III). Die Kristalle wurden nochmals im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 200–230° sublimiert. Das Sublimat gab aus Aceton-Äther farblose viereckige Körner, Smp. 308–313° (Zers.);  $[\alpha]_D^{25} = +121,29 \pm 29$  ( $c = 0,9154$  in Chloroform).

$$9,16 \text{ mg Subst. zu } 1,0006 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{25} = +1,110 \pm 0,020$$

(Auf Schmidt & Haensch- sowie auf Hilger-Polarimeter gleiche Werte). Zur Analyse wurde 5 Std. bei 0,01 Torr und 50° über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet.

$$1,436 \text{ mg Subst. gaben } 3,823 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 1,026 \text{ mg H}_2\text{O (A. P.)}$$

$$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4 \text{ (328,39) Ber. C } 73,14 \text{ H } 7,36\% \text{ Gef. C } 72,70 \text{ H } 7,93\%$$

Reduktionsprobe: negativ. UV.-Absorption: positiv. IR.-Spektrum siehe Theoret. Teil.

Lacton Nr. 874 (III) aus I mit  $\text{CrO}_3$ . 1,9 mg Aldosteronhydrat in 0,05 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 0,0165 cm<sup>3</sup> 2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung (entspr. 0,33 mg  $\text{CrO}_3$ )

versetzt. Es entstand sofort eine gelbbraune Fällung ( $\text{CrO}_3$ -Komplex), die sich nur allmählich löste. Das  $\text{CrO}_3$  war nach ca. 2' verbraucht, es wurden dann jeweils noch 4 gleiche Portionen  $\text{CrO}_3$ -Lösung (total somit 1,65 mg  $\text{CrO}_3$  entspr. 5 O-Äquiv.) zugegeben. Die erste war nach 5', die zweite nach 10' und die dritte nach 45' verbraucht, während die vierte nach weiteren 1½ Std. nicht mehr verbraucht wurde. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft, mit Wasser und 3 Tropfen 2-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Trennung wie oben gab nur eine Spur (< 0,1 mg) saure und 1,8 mg neutrale Anteile. Aus Aceton-Äther 0,9 mg farblose Körner, Smp. 298–310°. Dieses Präparat (Nr. 866) liess sich ebenfalls bei 0,01 Torr und 200–230° unzersetzt sublimieren. Es war nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit Lacton Nr. 874 (III). Polarität im  $B_3$ -System von *Bush* etwa gleich oder wenig höher als Adrenosteron. Im Formamid-Cyclohexan-Benzol-(1:1)-System bei 40°  $R_F = 0,34$  (Adrenosteron  $R_F = 0,59$ ).

Lacton Nr. 875 (IV). 7,3 mg 21-Monoacetyl-aldosteron (II) vom Smp. 198–199° in 0,7 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 0,055 cm<sup>3</sup> 2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Lösung (entspr. 1,1 mg  $\text{CrO}_3$ ) versetzt, die nach 25' bei 20° verbraucht war. Es wurden nochmals 0,030 cm<sup>3</sup> derselben Lösung (entspr. 0,6 mg  $\text{CrO}_3$ ) zugegeben, die in weiteren 45' auch verbraucht wurden. Ein dritter Zusatz von 0,030 cm<sup>3</sup> (entspr. 0,6 mg) war nach weiteren 1½ Std. nicht verbraucht. Es wurde mit 1 Tropfen Methanol versetzt und noch 2 Std. stehengelassen. Aufarbeitung wie oben gab keine sauren Anteile, aber 7,3 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 6,4 mg Kristalle, Smp. 196–199° und 0,1 mg Smp. 194–197°. Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab lange schmale sechseckige Blättchen, Smp. 198–200°. Nochmaliges Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab 5,5 mg hexagonale (teilweise rhombisch begrenzte) Blättchen, Smp. 193–194°;  $[\alpha]_D^{24} = +117,29 \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,6186$  in Chloroform).

6,19 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,725^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Reduktionsprobe: positiv; UV.-Absorption: positiv. Im Papierchromatogramm (Propylenglykol-Toluol) wandert es ca. wie 11-Dehydro-21-acetyl-corticosteron. IR.-Spektrum siehe Theoret. Teil.

Hydrierung von Lacton Nr. 874 (III) (Rohes Lacton VI). 9,692 mg Lacton Nr. 874 (III) wurden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 5 mg vorhydriertem  $\text{PtO}_2$  hydriert<sup>1)</sup>. Die  $\text{H}_2$ -Aufnahme war schon nach 10 Min. praktisch beendet (1,355 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2$  bei 21,1° und 746 Torr entspr. 1,88 Mol). Es wurde zur Sicherheit noch 40' weiter geschüttelt. Filtration und Eindampfen des Filtrates gab 10,2 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 4,5 mg farblose Kristalldrüsen, Smp. sehr unscharf, ca. 222–265° (Zers.); auch die Mutterlauge kristallisierte weitgehend, Smp. ca. 215–245° (Zers.). Für die erste *Wolff-Kishner*-Reaktion wurden Kristalle und Mutterlaugen wieder vereinigt.

#### Vorversuche zur *Wolff-Kishner*-Reaktion.

a) Vorversuch mit 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Dioxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester. 20 mg 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Dioxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVI) vom Smp. 236–240°, 50 mg wasserfreies Hydrazinhydrat und die Lösung von 20 mg Na in 0,6 cm<sup>3</sup> Äthanol wurden bei ca. 80 Torr in kleinem Einschlussrohr eingeschmolzen 15 Std. auf 145° erhitzt. Aufarbeitung wie unten gab nur Spuren neutraler Anteile. Die sauren Anteile wurden mit Diazomethan methyliert. Der Methylester (20 mg) gab aus Aceton-Äther 14 mg Kristalle, Smp. 237–241°, Mischprobe mit Ausgangsmaterial ebenso.

b) Vorversuch mit 3 $\beta$ -Acetoxy-ätien-(5)-säure. 200 mg 3 $\beta$ -Acetoxy-ätien-(5)-säure vom Smp. 236–244° mit 0,45 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und der Lösung von 0,2 g Na in 3 cm<sup>3</sup> Methanol im Vakuum eingeschmolzen 15 Std. auf 180° erhitzt. Aufarbeitung wie unten gab 5 mg neutrale Anteile (verworfen) und 181 mg rohe krist. Säure. Methylierung mit Diazomethan gab einen krist. Methylester, der mit Acetanhydrid-Pyridin acetyliert wurde. Das Rohprodukt (190 mg) gab aus Methanol insgesamt 162 mg Kristalle, die

<sup>1)</sup> Ausgeführt in Apparatur nach *N. Clauson-Kaas & F. Limborg*, Acta Chem. Scand. **1**, 884 (1947).



aber unscharf bei ca. 138—146° schmolzen. Umkristallisieren gab Blättchen, Smp. 152—155°. Mischprobe mit reinem 3 $\beta$ -Acetoxy-ätiën-(5)-säure-methylester (Smp. 158—160°) schmolz bei 152—157°.

c) Vorversuch mit 3 $\beta$ -Oxy-ätiadien-(5,16)-säure. 150 mg 3 $\beta$ -Oxy-ätiadien-(5,16)-säure vom Smp. 257—262° mit 0,35 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und der Lösung von 150 mg Na in 3 cm<sup>3</sup> Methanol im Einschlussrohr 16 Std. auf 185° erhitzt. Nach Erkalten wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, das Methanol im Vakuum abdestilliert, wobei eine amorphe Fällung entstand. Die Suspension wurde zuerst mit Chloroform-Äther (1:3), dann mit Chloroform-Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Extrakte gaben 13 bzw. 27 mg Rückstand (Neutralteile). Dieses Material gab nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> etwas Kristalle, Smp. 116—121 → 136—138°, sowie 236—246° (Zers.), die aber nicht weiter untersucht wurden.

Die verbliebenen wässerigen Phasen wurden mit HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 56 mg Säuren (amorph). Dieses Material wurde in Äthylacetat vorsichtig mit Diazomethan methyliert, dann mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert und an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, worauf sich 4 mg reiner 3 $\beta$ -Acetoxy-ätiadien-(5,16)-säure-methylester, Smp. 157—159° isolieren liessen.

Die mit Chloroform ausgeschüttelte saure wässrige Phase wurde im Vakuum etwas eingengt und 16 Std. bei 0° stehengelassen, worauf 45 mg farblose Blättchen ausfielen; Smp. 246—255° (Zers.). Dieses Produkt war löslich in Methanol und Äthanol, unlöslich in Chloroform. Es liess sich aus Methanol-Wasser kristallisieren. Gef. N = 6,93%.

d) Vorversuch mit Isodigitoxigenin (XLII). 200 mg Isodigitoxigenin vom Smp. 270° wurden mit 3 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und der Lösung von 200 mg Na in 10 cm<sup>3</sup> Äthanol im Einschlussrohr 16 Std. auf 178° erhitzt. Nach Erkalten wurde der Alkohol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in Wasser aufgenommen und zweimal mit 70 cm<sup>3</sup> Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge wurden eingedampft. Rückstand 1 mg Neutralsubstanz (verworfen).

Die vereinigten wässerigen Phasen wurden mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und dreimal mit je 70 cm<sup>3</sup> Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die mit etwas Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge wurden zur event. Lactonisierung eingedampft. Der Rückstand wurde erneut in Chloroform-Äther (1:3) gelöst und viermal mit je 10 cm<sup>3</sup> 2-n. Sodalösung und zweimal mit je 10 cm<sup>3</sup> Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab 1 mg „Lactone“ (verworfen).

Die Sodauszüge und Waschwässer wurden wieder mit HCl angesäuert und wie oben ausgeschüttelt. Sie gaben 210 mg Säuren. Letztere wurden in Chloroform gelöst mit Diazomethan methyliert und anschliessend mit 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 22 Std. auf 36° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 227 mg neutrales Rohprodukt (acetylierte Methylester), das an 6,8 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 1—2 (36 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (60:40)) blieben amorph.

Die Fraktionen 3—7 (57 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (60:40)) gaben aus Äther-Pentan 46 mg reine Kristalle XLVIIa, Smp. 117—121°.

Die Fraktionen 8—9 (48 mg, eluiert mit Petroläther-Benzol (20:80)) gaben Kristallgemische XLVIIa + b, Smp. ca. 140—163°.

Die Fraktionen 10—15 (31 mg, eluiert mit Benzol sowie Benzol-Äther (75:25)) gaben aus Äther-Pentan 18 mg reine Kristalle L, Smp. 148—151°.

Aus den folgenden Fraktionen 16 und 17 konnten noch etwas Kristalle vom Smp. 125—129° resp. 128—138° isoliert werden.

Das Kristallgemisch der Fraktionen 8—9 konnte nach wiederholter Chromatographie in wenig XLVIIa und reines XLVIIb, Smp. 170—171,5° aus Aceton-Pentan, getrennt werden.

Substanz XLVIIa. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äther-Pentan Smp. 125—126°;  $[\alpha]_D^{25} = +11,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,0187 in Chloroform). Ausbeute ca. 23%.

C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub> (434,60) Ber. C 71,85 H 9,74% Gef. C 71,62 H 9,69% (OAB)

*Substanz XLVIIb.* Aus Aceton-Pentan, Smp. 170–171,5°;  $[\alpha]_D^{24} = +9,7^0 \pm 1,5^0$  (c = 1,4528 in Chloroform). Ausbeute ca. 5%.

$C_{26}H_{42}O_5$	Ber. C 71,85	H 9,74	—OCH <sub>3</sub> 7,14%
(434,60)	Gef. „, 71,90	„, 9,28	„, 7,15% (OAB)

*Substanz L<sup>1</sup>.* Aus Aceton-Pentan, Smp. 149–152°;  $[\alpha]_D^{25} = -33,7^0 \pm 1,5^0$  (c = 1,6446 in Chloroform). Ausbeute ca. 9%.

$C_{26}H_{38}O_8$	Ber. C 69,93	H 9,19	—OCH <sub>3</sub> 6,95%
(446,56)	Gef. „, 69,45	„, 8,77	„, 7,09%

In anderen Versuchen (siehe spätere Mitteilung) wurden die freien Oxymethylester getrennt. Dabei gelang es bisher nur die zwei Oxyester XLVIa und IL zu fassen. Durch Acetylierung gingen sie in XLVIIa und L über.

*Wolff-Kishner* Reaktion mit rohem Hydrierungsprodukt von Lacton Nr. 874. Die 10,2 mg rohes Hydrierungsprodukt wurden mit 30 mg Hydrazinhydrat und der Lösung von 12 mg Na in 0,5 cm<sup>3</sup> Äthanol bei 80 Torr eingeschmolzen und 14 Std. auf 148° erhitzt. Nach Erkalten waren im farblosen Rohrinhalt etwas Kristallnadeln sichtbar. Es wurde im Vakuum vom Alkohol befreit, mit HCl bei 0° auf pH = 1 gebracht und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden abwechselnd mit kleinen Portionen 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Ausbeute 2,43 mg Neutralteile (inkl. event. Lactone).

Die vereinigten Wasser- und Sodauszüge wurden bei 0° mit HCl auf pH = 1 gebracht und erneut mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 7,8 mg Säuregemisch. Dieses gab aus Aceton-Äther 3,6 mg krist. Säure X, Smp. 270–275° (Zers.) sowie noch 0,5 mg wenig tiefer bei 252–268° (Zers.) schmelzende Kristalle. Das bei 270–275° schmelzende Präparat gab bei der Mischprobe mit 3β,11β-Dioxy-5α-ätiansäure (Smp. 260–265°) eine merkliche Depression (Smp. 240–255°). Die 3,8 mg Mutterlaugen der krist. Säure X wurden nochmals in Chloroform-Äther gelöst und in neutrale Anteile (0,6 mg „Lactone“) und 3,2 mg saure Anteile getrennt. Verarbeitung der letzteren siehe weiter unten.

Methylester Nr. 876 (XI). Die krist. Säure X (4,1 mg) wurde mit Diazomethan methyliert. Das Rohprodukt gab beim Waschen mit Sodalösung 0,3 mg saure Anteile (vereinigt mit obigen 3,2 mg amorpher Säure) und 3,8 mg rohen Methylester Nr. 876 (XI). Aus Aceton-Äther-Pentan 3,6 mg farblose Prismen, Smp. 232–236°;  $[\alpha]_D^{25} = +81,5^0 \pm 6^0$  (c = 0,362 in Chloroform).

3,62 mg Subst. zu 1,006 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{25} = +0,295^0 \pm 0,02^0$   
(Auf *Schmidt & Haensch*- sowie auf *Hilger*-Polarimeter gleich).

Die Mischprobe mit 3β,11β-Dioxy-5α-ätiansäure-methylester (XVI, dicke Prismen aus Aceton, Smp. 238–239°;  $[\alpha]_D^{25} = +59,8^0$  in Chf.) schmolz bei 210–230°. Nr. 876 war auch in Aceton merklich leichter löslich als der 3,11-Dioxy-ester XVI. Die 0,2 mg aus den Mutterlaugen dienten zur Oxydation (siehe Trennung der Mutterlaugen von X).

Keto-ester Nr. 877 (XIX). 3,5 mg Oxy-ester Nr. 876 vom Smp. 232–236° in 0,5 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 0,09 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (entspr. 1,8 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 2 Std. stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> anwesend war. Dann wurde mit 1 Tropfen Methanol versetzt und noch 2 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 3,5 mg neutrales Rohprodukt. Aus Spur Aceton mit Äther und Pentan 2,8 mg farblose hexagonale Blättchen, Smp. 205–209°. Aus reinem Äther 2,2 mg feine Nadeln (mit Äther-Pentan und Pentan gewaschen), Smp. 209–211°;  $[\alpha]_D^{25} = +102^0 \pm 8^0$  (c = 0,2528 in Chloroform).

2,530 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{25} = +0,255^0 \pm 0,02^0$  (*Hilger*) resp.  $+0,260^0 \pm 0,02^0$  (*Schmidt & Haensch*).

<sup>1</sup>) Es wird später geprüft, ob das Acetylderivat des Iso-digitoxigensäure-methylesters von *Jacobs & Gustus*<sup>1)</sup> vorliegt oder ein Isomeres. Vgl. Anmerkung 1, Seite 1212.

Trocknung zur Analyse 2 Std. 0,01 Torr und 80° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

1,783 mg Subst. gaben 4,560 mg CO<sub>2</sub> und 1,261 mg H<sub>2</sub>O (OAB)

C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> (360,43) Ber. C 69,97 H 7,83% Gef. C 69,79 H 7,91%

3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII) (Blättchen aus Aceton-Äther, Smp. 210—212°) schmolz nach starkem Verreiben bei 206—210°, die Mischprobe mit Nr. 877 bei 190—205°.

IR.-Spektrum siehe theoret. Teil.

Trennung der Mutterlaugen der krist. Säure X. Die 3,2 mg amorphes Säuregemisch (aus Mutterlauge von X) und die 0,3 mg sauren Anteile aus Methylierung von X wurden vereinigt. Dies Material wurde in wenig Chloroform gelöst, mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 20' bei 20° stengelassen. Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen gab 3,6 mg Rohprodukt. Dies wurde mit den 0,2 mg Mutterlaugen des krist. Methylesters Nr. 876 vereinigt (3,8 mg) in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 0,12 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (= 2,4 mg CrO<sub>3</sub>) oxydiert. Aufarbeitung wie oben gab 3,3 mg farbloses Rohprodukt. Es wurde mit den letzten Mutterlaugen von Nr. 877 vereinigt und das Ganze (3,8 mg) chromatographisch an 0,3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sorgfältig in 44 Fraktionen zerlegt.

Die ersten 25 Fraktionen, eluiert mit Petroläther-Benzol-Gemischen, lieferten nur Spuren Material (meist amorph, in Fr. 12—15 Spuren von Kristallnadeln).

Die Fraktionen 26—28 (eluiert mit Petroläther-Benzol (80:20) sowie reinem Benzol) gaben aus Äther-Pentan 0,3 mg farblose Spiesse (Nr. 878), Smp. 205—212° (nach starkem Verreiben Smp. 202—212°). Die Mischprobe mit 3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII)<sup>1</sup>) schmolz bei 202—212°. Mischprobe mit Nr. 877 schmolz bei 189—205°. Dieses Präparat (Nr. 878) war nach IR.-Spektrum (vgl. theoret. Teil) identisch mit XVIII.

Die Fraktion 29 (eluiert mit Benzol) gab wenig Kristalle Smp. 180—205° und die Fraktion 30 solche vom Smp. 165—184°.

Die Fraktionen 31—38 (eluiert mit Benzol sowie Benzol-Äther 1:1) gaben zusammen zuerst ca. 0,1 mg Präparat Nr. 879 in farblosen Blättchen, Smp. 205—215° (Sintern von 197° an); die Mutterlauge gab noch etwas Kristalle, Smp. 171—201°.

Die Mischprobe von Nr. 879 mit Nr. 878 (XVIII) schmolz bei ca. 178—200°. Die von 879 mit 877 bei 176—195°.

Isolierung von reinem Lacton Nr. 880 (VII). 20,1 mg Lacton Nr. 874 vom Smp. 304—310° (Zers.) wurden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 1,75 mg vorhydriertem PtO<sub>2</sub> hydriert. Die Gasaufnahme war nach 50' beendet (verbr. 3,3 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub> bei 22,4° und 731 Torr entspr. 2,14 Mol.)<sup>2</sup>). Das rohe Hydrierungsprodukt wurde in 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid und 0,3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin 16 Std. bei 20° stengelassen. Dann wurde im Vakuum bei 40° eingedampft, in Chloroform-Äther (1:3) aufgenommen, mit je 0,3 cm<sup>3</sup> verd. HCl, Wasser, KHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser zweimal gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (20 mg) gab aus wenig Aceton-Äther (ca. 1:10) 8 mg feine Nadeln, Smp. 199—220°. Die Reinigung gelang am besten durch Lösen in Aceton-Äther (1:1), Zusatz von Methanol und starkes Einengen, wobei fast reines Methanol zurückblieb. Erhalten wurden 4,2 mg flache Nadeln (Nr. 880), die sich beim Erhitzen gegen 219° in dünne lange Nadeln umwandelten, Smp. 222—226°.

Die Mutterlaugen (12 mg) der Rohkristalle wurden an 400 mg Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (Tab. 1).

Die Fraktionen 3 und 4 gaben noch 1,5 mg reines Lacton Nr. 880, Smp. 218° → 221—225°.

<sup>1</sup>) Der authentische 3,11-Diketo-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVIII) kristallisierte aus Aceton-Äther in länglichen sechseckigen Blättchen, Smp. 210—212°;  $[\alpha]_D^{25} = +94,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,0848 in Chloroform).

<sup>2</sup>) Es wurde in einem Spezialkölbchen hydriert, das die Messung des verbrauchten Wasserstoffs nicht mit derselben Genauigkeit gestattet wie die Apparatur von *Clavson-Kaas & Limborg*, die präparative Aufarbeitung aber wesentlich erleichtert.

Tabelle 1.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus bei Kristallen Smp.
1	Petroläther-Benzol (1:1)	0,3	amorph
2	Benzol	0,2	amorph
3	Benzol	4,2	217° → 221—225°
4	Benzol	1,4	218° → 221—225°
5	Benzol-Äther (90:10)	1,2	205—220° (ohne Umw.)
6	Benzol-Äther (80:20)	0,5	amorph
7	Benzol-Äther (50:50)	0,4	amorph
8	Äther	0,1	amorph
9	Äther	0,1	amorph
10	Äther	0,1	amorph
11	Äther-Chloroform (98:2)	0,05	amorph
12	Äther-Chloroform (96:4)	0,05	amorph
13	Äther-Chloroform (92:8)	Spur	amorph
14	Äther-Chloroform (85:15)	0,1	amorph
15	Äther-Chloroform (70:30)	0,3	amorph
16	Gemisch <sup>1)</sup> + 1% Eisessig	0,1	amorph
17	Gemisch <sup>1)</sup> + 2% Eisessig	0,9	amorph
18	Gemisch <sup>1)</sup> + 3% Eisessig	0,1	amorph
19	Gemisch <sup>1)</sup> + 4% Eisessig	0,05	amorph
20	Gemisch <sup>1)</sup> + 5% Eisessig	0,0	amorph
		10,15	

Alle Mutterlaugen und schlecht schmelzenden Kristalle wurden vereinigt (13 mg) und nochmals wie oben an 0,6 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, wobei in 32 Fraktionen aufgetrennt wurde.

Die Fraktionen 1–10 (eluiert mit Petroläther-Benzol von 10–60% Benzolgehalt) gaben zusammen 1,4 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 11 (eluiert mit Petroläther-Benzol (40:60)) und 12 (eluiert mit Petroläther-Benzol (20:80)) gaben keinen wägbaren Rückstand.

Die Fraktionen 13–17 (total 1,9 mg, eluiert mit reinem Benzol sowie Benzol-Äther (95:5)) gaben aus Methanol noch 1,4 mg reines Lacton Nr. 880, Smp. 216° → 220–224°.

Fraktion 18 (eluiert mit Benzol-Äther (95:5)) gab nur eine Spur Rückstand.

Fraktion 19 (1 mg, eluiert mit Benzol-Äther (90:10)) gab aus Methanol-Äther 0,7 mg Präparat Nr. 881, Smp. roh 200–219°. Nach Umkristallisieren 0,4 mg Smp. 210–221° (ohne Umwandlung). Die Mischprobe mit Nr. 880 schmolz bei 190–210°.

Die weiteren Fraktionen 20–32 gaben nur noch 0,7 mg amorphes Material.

Da bei beiden Chromatogrammen ein Verlust aufgetreten war, wurde das benützte  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in einem Rundkolben mit verd. HCl vermischt und dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Chloroformlösung hinterliess noch 7,1 mg Rückstand. Dieser wurde mit sämtlichen amorphen Anteilen und Mutterlaugen von Nr. 880 vereinigt.

Ein zweiter Versuch mit 7,92 mg Lacton Nr. 874 gab 8,1 mg rohes Hydrierungsprodukt und daraus 8,8 mg rohes Acetylierungsgemisch sowie 2,1 mg reines Lacton Nr. 880, Smp. 218 → 225°. Der Rückstand aus der Mutterlauge (6,7 mg) wurde nicht chromato-

<sup>1)</sup> Chloroform-Methanol-Äthylacetat (1:1:1).

graphiert, sondern mit obigem Material vereinigt. Total wurden 9,4 mg reines Lacton Nr. 880 erhalten.

Lacton Nr. 880. Aus Methanol wie beschrieben flache Nadeln; Smp. mit Umwandlung ca.  $218 \rightarrow 225^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{26} = 0^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,5246$  in Chloroform).

Reduktion von reinem Lacton Nr. 880 nach *Wolff-Kishner*. 9,2 mg reines Lacton Nr. 880, Smp.  $218 \rightarrow 225^\circ$  wurden in kleinem Bombenrohr zunächst offen mit  $0,12 \text{ cm}^3$  Hydrazinhydrat  $1\frac{1}{2}$  Std. auf  $100^\circ$  erhitzt. Dann wurde die Lösung von 11 mg Na in  $0,5 \text{ cm}^3$  Äthanol zugegeben, bei 80 Torr eingeschmolzen und 14 Std. auf  $151^\circ$  erhitzt. Nach Erkalten wurde der Alkohol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit wenig Wasser versetzt und dreimal mit je  $10 \text{ cm}^3$  Chloroform-Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 0,8 mg Rückstand (Neutralteile).

Die wässrige Phase und die Waschwässer wurden bei  $0^\circ$  mit HCl auf  $\text{pH} = 1$  gebracht und wieder dreimal mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Diese drei Auszüge wurden im Gegenstrom der Reihe nach mit je  $0,3 \text{ cm}^3$  der folgenden Lösungen gewaschen: Wasser, 2-n. Sodalösung, Wasser, 2-n. Sodalösung, Wasser, Wasser. Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen gab 1,4 mg Rückstand (= Lactone, Verarbeitung siehe unten), der teilweise kristallisierte.

Die Sodauszüge und Waschwässer wurden vereinigt, bei  $0^\circ$  mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und erneut mit Chloroform-Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 6,7 mg Rückstand (Säuren).

Trennung der Säuren von obigem Versuch. Die 6,7 mg Säuregemisch gaben aus Aceton-Äther in zwei Fraktionen 4,5 mg Kristalle, Smp.  $251-268^\circ$ , und als dritte Fraktion 0,5 mg vom Smp.  $235-265^\circ$ . Da eine Reinigung hier nicht gelang, wurden die vereinigten Kristalle (5 mg) sowie die Mutterlaugen (1,7 mg) mit Diazomethan methyliert.

Die 5 mg krist. Säure gaben 5,1 mg rohen Methylester. Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab ein Gemisch von groben Prismen und feinen Nadeln. Letztere konnten mit Äther-Pentan herausgewaschen werden. Sorgfältige Fraktionierung und nochmaliges Umkristallisieren gab 1,7 mg grobe Prismen, Smp.  $232-237^\circ$ , die nach Mischprobe mit Nr. 876 identisch waren. (Mischprobe mit XVI schmolz bei  $210-230^\circ$ ). Die verbliebenen Mutterlaugen (3,4 mg) wurden mit dem Methylestergemisch (1,8 mg) aus den 1,7 mg Mutterlaugen der krist. Säure vereinigt. Dies Material (5,2 mg) diente zur Acetylierung (siehe unten).

Lacton Nr. 882 (XII). Die 1,7 mg reines Lacton Nr. 876 aus obigem Versuch wurden mit 15 mg abs. Pyridin und 10 mg Acetanhydrid 16 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 1,9 mg Rohprodukt. Aus Spur Aceton mit Äther Kristalle, Smp.  $185-194^\circ$ . Aus wenig Methanol hexagonale Blättchen, Smp.  $194-195^\circ$ . Für Drehung und Analyse wurde dieses Material mit demjenigen aus den folgenden Chromatogrammen vereinigt;  $[\alpha]_D^{26} = +64,1^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,4839$  in Chloroform).

$$4,839 \text{ mg Subst. zu } 1,0006 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{26} = +0,31^\circ \pm 0,02^\circ$$

Zur Analyse wurde 2 Std. bei 0,01 Torr und  $80^\circ$  getrocknet.

1,071 mg Subst. gaben 2,674 mg  $\text{CO}_2$  und 0,729 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (OAB)

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_6$  (404,49) Ber. C 68,29 H 7,97% Gef. C 68,14 H 7,62%

Die Mischprobe mit XVII schmolz bei  $157-195^\circ$ . IR.-Spektrum siehe theoret. Teil.

Trennung der Methylester-Mutterlaugen aus reinem 880. Die 5,2 mg aus den Methylester-Mutterlaugen wurden wie oben acetyliert und das Acetatgemisch (5,6 mg) an  $500 \text{ mg Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 1-12 (eluiert mit Petroläther-Benzol bis zu 50% Benzolgehalt) gaben nur wenig Rückstand und höchstens Spuren von Kristallen.

Fraktion 15 (eluiert mit reinem Benzol) gab aus Äther-Pentan wenig flache, doppelt zugespitzte Nadeln (Nebenprodukt Nr. 884) Smp.  $198-201^\circ$ . Die Mischprobe mit Nr. 882

schmolz bei 160–193° und diejenige mit XVII bei 165–196°. Die Mutterlauge wurde mit den Fraktionen 13–14 vereinigt und gab aus Spur Äther mit Pentan noch wenig dicke Quader, Smp. 182–185°.

Die Fraktionen 16–18 (eluiert mit reinem Benzol sowie Benzol-Äther (95:5)) gaben aus Äther-Pentan 1,018 mg reinen Ester Nr. 882, Smp. 190–195°, und aus der Mutterlauge noch wenig vom Smp. 180–191°.

Fraktion 19 gab wenig Kristallgemisch, Smp. 172–186°.

Die Fraktionen 20–26 (eluiert mit Benzol-Äther von 10–50% Äthergehalt) gaben aus Äther-Pentan 0,970 mg fast reinen Ester Nr. 883, Smp. 193–202° und aus der Mutterlauge noch 0,083 mg vom Smp. 188–200°.

Die weiteren Fraktionen 27–32 gaben nur noch wenig amorphes Material.

Reduktion der Mutterlaugen von Lacton Nr. 880 nach *Wolff-Kishner*. Die vereinigten Mutterlaugen (19,1 mg) des reinen Lactons Nr. 880 wurden 2 Std. mit 0,3 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat auf 100° erhitzt und nach Zusatz von 25 mg Na in 1 cm<sup>3</sup> Äthanol 17 Std. auf 151° erhitzt. Aufarbeitung wie oben gab 4,5 mg Neutrales, 4,4 mg Lactone (Verarbeitung siehe unten) und 8,5 mg Säuren. Die 8,5 mg Säuren wurden wieder methyliert (9,3 mg) und acetyliert (10,2 mg). Dies Material wurde mit allen Mutterlaugen (1,6 mg) von 882 vereinigt, das aus reinem 880 erhalten worden war. Das Ganze (11,8 mg) wurde an 1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (40 Fraktionen).

Aus den Fraktionen 13–24 wurden noch 2,7 mg rohes Lacton Nr. 882, Smp. 185–193° erhalten.

Die Fraktionen 25–27 gaben noch wenig unreines Lacton Nr. 882, Smp. 182–192°.

Die Fraktionen 28–38 gaben noch 1,6 mg fast reinen Ester Nr. 883 vom Smp. 192–199°.

Insgesamt wurden aus den 28,02 mg Lacton Nr. 874 4,9 mg Lacton Nr. 882 und 2,4 mg Ester Nr. 883 in reiner Form isoliert.

Ester Nr. 883 (XVII). Für die Drehung musste das aus Äther-Pentan umkristallisierte Material, flache Nadeln, Smp. 193–202° verwendet werden;  $[\alpha]_D^{24} = +52,2^\circ \pm 8^\circ$  ( $c = 0,2395$  in Aceton).

2,397 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,125^\circ \pm 0,02^\circ$

(Apparat von *Schmidt & Haensch*). Umkristallisieren aus Spur reinem Methanol gab hexagonale Blättchen, Smp. 199–201°, doch waren die Verluste gross. Authentischer 3 $\beta$ -Acetoxy-11 $\beta$ -oxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XVII), krist. aus Methanol in hexagonalen Blättchen, zeigte Smp. 201–202°;  $[\alpha]_D^{25} = +62,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,183$  in Aceton).

Die Mischproben schmolzen gleich. Die IR.-Spektren von Nr. 883 und authentischem XVII (vgl. theoret. Teil) waren identisch.

Ketol Nr. 885 (VIII). 6,3 mg Lacton Nr. 875 wurden in 1 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 7 mg KHCO<sub>3</sub> in 0,235 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 48 Std. bei 18° stehengelassen, wobei leichte Gelbfärbung eintrat. Dann wurde das Methanol im Vakuum bei 20° entfernt, die Mischung mit verd. HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. (Verarbeitung der Waschlösungen siehe unten.) Die Auszüge wurden einmal mit 0,1 cm<sup>3</sup> Wasser, einmal mit 0,2 cm<sup>3</sup> 15-proz. KHCO<sub>3</sub>-Lösung und zweimal mit je 0,1 cm<sup>3</sup> Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (3,5 mg) kristallisierte aus Aceton-Äther in farblosen Körnern, Smp. 203–218° (= Nr. 885).

1,9 mg aus den Mutterlaugen von Nr. 875 (aus zwei Versuchen) wurden in 0,7 cm<sup>3</sup> Methanol und 2 mg KHCO<sub>3</sub> in 0,25 cm<sup>3</sup> Wasser wie oben verseift. Hier blieb, im Unterschied zu obigem Versuch mit reinen Kristallen, ein kleiner Teil des Materials ungelöst. Erhalten wurden 1,5 mg neutrales Rohprodukt (rohes Nr. 885), das nach Impfen ebenfalls kristallisierte.

Die wässrigen Phasen aus beiden Verseifungsversuchen wurden mit HCl bei 0° bis zur kongosauren Reaktion versetzt und wieder mit Chloroform-Äther ausgeschüttelt.

Die mit wenig Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 2,7 mg Rückstand. Dieser wurde erneut in Chloroform-Äther gelöst und mit  $\text{KHCO}_3$ -Wasser in neutrale und saure Anteile zerlegt. Erhalten wurden 0,8 mg Neutralteile (mit obigem rohem Nr. 885 vereinigt) und 1,8 mg Säuren. Letztere gaben aus wenig Aceton glänzende Körner, Smp. 273–288° (Zers.). Die gesamten 1,8 mg Säure (Kristalle + Mutterlaugen) wurden mit Diazomethan methyliert, doch kristallisierte der Methyl ester bisher nicht.

Lactonester Nr. 886 (XIV). Das rohe Ketol Nr. 885 von obigem Versuch (5,8 mg) wurde in 0,6 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst mit 1,2 cm<sup>3</sup>  $\text{NaJO}_4$ -Lösung (siehe oben) versetzt und 1 $\frac{1}{4}$  Std. bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Nr. 874 gab 3 mg neutrale Anteile (nicht untersucht) und 2,8 mg Säure (XIII), die aus Aceton-Äther in farblosen Körnern kristallisierte, Smp. 310–320° (Zers.).

Kristalle und Mutterlaugen wurden mit Diazomethan methyliert (ca. 20') und gaben 3 mg rohen Methyl ester Nr. 886. Aus wenig Aceton-Äther 1,7 mg farblose Prismen, Smp. 219° → 225° unter Umwandlung in feine Nadeln.

Lacton XI und Präparat Nr. 887 (XIX) aus Nr. 886 (XIV). Die 1,7 mg Kristalle Nr. 886 wurden mit 1,5 mg vorhydriertem  $\text{PtO}_2$  in 1,5 cm<sup>3</sup> Eisessig hydriert. Nach 10 Min. war die für 2 Mol  $\text{H}_2$  berechnete Menge aufgenommen und die Hydrierung stand still. Zur Sicherheit wurde noch  $\frac{1}{2}$  Std. geschüttelt. Filtration, Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther, Waschen mit Wasser, Trocknen und Eindampfen gab 1,7 mg Rohprodukt. Aus wenig Aceton-Äther, dann aus Aceton-Äther-Pentan 1,1 mg farblose Körner, Smp. 228–232°. Die Mischprobe mit Nr. 876 schmolz bei 228–236°. Die Mutterlauge gab noch 0,4 mg wenig tiefer schmelzende Kristalle. Die vereinigten Kristalle (1,5 mg) sowie der Rückstand aus der Mutterlauge dienten zur Oxydation (siehe unten).

1,3 mg aus den Mutterlaugen von Nr. 886 wurden analog hydriert und das rohe Hydrierungsprodukt mit obigen 0,2 mg Mutterlaugen vereinigt (1,5 mg).

Die 1,5 mg Kristalle wurden in 0,15 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 0,03 cm<sup>3</sup> 2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung (entspr. 0,6 mg  $\text{CrO}_3$ ) 4 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch  $\text{CrO}_3$  nachweisbar war. Übliche Aufarbeitung gab 1,4 mg Rohprodukt. Aus Spur Aceton-Äther-Pentan, dann aus Methanol-Äther 0,5 mg Kristalle Nr. 887, Smp. 201–205°. Die Mutterlauge (0,8 mg) diente für den folgenden Versuch.

Die 1,5 mg Mutterlaugen aus hydriertem Nr. 886 wurden analog mit  $\text{CrO}_3$  dehydriert, das Rohprodukt (1,4 mg) mit den 0,8 mg Mutterlaugen von Nr. 887 vereinigt und das Ganze (2,4 mg) an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Die Fraktionen 9–15 (eluiert mit Benzol-Äther von 5–20% Äthergehalt) gaben aus Äther-Pentan noch 0,4 mg Kristalle Nr. 887, Smp. 202–206°.

Die vereinigten Kristalle von Nr. 887 wurden zusammen nochmals aus Äther-Pentan umkristallisiert und gaben 0,85 mg Präparat Nr. 887, Smp. 204–207°. Die Mischprobe mit Nr. 877 schmolz bei 204–209°. Die IR.-Spektren waren identisch.

Versuch zur Isolierung des Ketolactons Nr. 889 (IX ?). Die bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion von 9,2 mg reinem Lacton Nr. 880 (VII) erhaltenen 1,4 mg „Lactone“ waren teilweise kristallin. Nach Waschen mit Äther-Pentan schmolzen die klebrigen Kristalle aber sehr unscharf bei 100–150°. Kristalle und Mutterlaugen wurden daher mit den 4,4 mg „Lactonen“ aus der *Wolff-Kishner*-Reduktion von 19,1 mg aus den Mutterlaugen von Nr. 880 vereinigt und dieses Material (5,8 mg) mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig dehydriert, bis bei 20° kein  $\text{CrO}_3$  mehr verbraucht wurde. Die übliche Aufarbeitung gab 4,4 mg neutrales Rohprodukt, das an 0,3 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Lediglich die mit Äther-Methanol (8–50% Methanolgehalt) eluierten Anteile (0,4 mg) gaben Kristalle. Zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab ca. 0,1 mg Präparat Nr. 889: farblose zu Drusen vereinigte feine Nadeln, Smp. 275° → 290° unter Umwandlung in grobe Nadeln. Im IR.-Spektrum in Chloroform war bei 5,61  $\mu$  eine scharfe aber relativ schwache Bande sichtbar (entspr.  $\gamma$ -Lacton), sowie eine sehr starke Bande mit Doppelstruktur und Maximum bei 5,77  $\mu$ .

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

### Zusammenfassung.

Abbau von Aldosteron ( $C_{21}H_{28}O_5$ ) mit  $NaJO_4$  oder  $CrO_3$  gab neben Formaldehyd ein Lacton (III) (Nr. 874), das nach Hydrierung und Erhitzen mit Hydrazin und Na-Äthylat ein Gemisch von neutralen und sauren Stoffen lieferte. Aus den sauren Anteilen liessen sich  $3\beta$ ,  $11\beta$ -Androstan-18-säure-17-carbonsäure-lacton-(18→11) (X) sowie Derivate der  $3\beta$ ,  $11\beta$ -Dioxy-5 $\alpha$ -ätiansäure (XV) in reiner Form isolieren. Das Lacton X wurde durch seinen krist. Methylester Nr. 876 (XI), sein Acetylderivat Nr. 882 (XII) und den aus Nr. 876 (XI) erhältlichen 3-Keto-methylester Nr. 877 (XIX) charakterisiert. XIX konnte auch aus 21-Monoacetyl-aldosteron nach Dehydrierung mit  $CrO_3$ , milder Verseifung, Abbau mit  $NaJO_4$ , Methylierung, Hydrierung mit Pt und Dehydrierung mit  $CrO_3$  gewonnen werden. Die IR.-Spektren der genannten Stoffe werden wiedergegeben. Für Aldosteron ergab sich die Formel eines 18-Oxo-corticosterons Ib; in Lösung dürfte es vorwiegend in der Cyclohalbacetalform Ia vorliegen.

The Middlesex Hospital Medical School, London W. 1,  
Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,  
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

### 140. Synthese von 1,1-Dimethyl-2-( $\beta$ -carboxy-äthyl)-cyclohexanon-(3)

von D. Stauffacher<sup>1)</sup> und H. Schinz.

(27. IV. 54.)

In einer vorhergehenden Abhandlung<sup>2)</sup> haben wir einen einfachen Weg zur Herstellung der 5-Methyl-hexen-(5)-säure-(1) ( $\delta$ -Methylen-capronsäure) beschrieben. Er besteht in einer neuartigen Spaltung einer Lactonsäure, die durch Verseifung und Lactonisierung des bei der Kondensation von  $\gamma$ -Acetyl-buttersäureester mit Bromessigester erhaltenen Produktes erhalten wird. Diese neue Methode zur Einführung endständiger Methylengruppen sollte nun auf die alicyclische Reihe übertragen werden.

1,1-Dimethyl-2-carbäthoxy-cyclohexanon-(3) (I)<sup>3)</sup> wurde mit Acrylsäureester (II) zum Ketodicarbonsäureester III kondensiert. Dieser sollte durch Ketonspaltung in 1,1-Dimethyl-2-( $\beta$ -carbäthoxy-äthyl)-cyclohexanon-(3) (VI) übergeführt und das letztere durch Um-

<sup>1)</sup> Vgl. Diss. ETH., Zürich 1953.

<sup>2)</sup> H. Kappeler, D. Stauffacher, A. Eschenmoser & H. Schinz, Helv. **37**, 957 (1954).

<sup>3)</sup> U. Steiner & B. Willhalm, Helv. **35**, 1752 (1952).