

### 169. Isolierung von Substanz Y und 3 $\alpha$ ,17,21-Dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-11,20-dion («11-Dehydro-C»)

Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe, 98. Mitteilung<sup>1)</sup>

von J. v. EUW, C. MEYSTRE, R. NEHER, T. REICHSTEIN und A. WETTSTEIN

(12. VII. 58)

Bei der Isolierung von Aldosteron aus Extrakten von Rinder-Nebennieren<sup>2)</sup> wurden eine grössere Anzahl Fraktionen erhalten, die nach Papierchromatogramm neue Substanzen enthielten, oder solche, die bisher in Nebennieren-Extrakten noch nicht nachgewiesen wurden. Die Isolierung 9 solcher Stoffe ist bereits von NEHER & WETTSTEIN<sup>3)</sup> 4) beschrieben worden. Hier wird zunächst über den Nachweis und die Isolierung von zwei weiteren neuen Stoffen (Y und «11-Dehydro-C») aus Aldosteron-Mutterlaugen und -Nebenfraktionen berichtet<sup>5)</sup>.

Über die Zusammensetzung solcher Mutterlaugen gab der folgende Befund bereits gute Anhaltspunkte. Wie früher<sup>6)</sup> beschrieben, wurden Aldosteron-Mutterlaugen mit NaJO<sub>4</sub> abgebaut, um weitere Mengen von Lacton Nr. 874<sup>6)</sup> zur Konstitutionsaufklärung<sup>6)</sup> zu gewinnen. Bei dieser Reaktion wurden ausser neutralen Anteilen aber auch noch reichliche Mengen von Säuren erhalten, die aus den Begleitstoffen (Cortison usw.) stammten. 260 mg solcher Säuren wurden mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> methyliert und das Gemisch<sup>7)</sup> der Methylester (250 mg) einer orientierenden Trennung durch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> unterworfen. In reinem krist. Zustand wurden dabei die folgenden 5 Stoffe erhalten:

- 1) 24 mg Präparat Nr. 891, Smp. 56–57°
- 2) 0,2 mg Lacton Nr. 874<sup>6)</sup>
- 3) 14 mg 3,11-Diketo-17-hydroxy-ätien-(4)-säure-methylester<sup>7)</sup> (stammt aus Cortison)
- 4) 2 mg 3-Keto-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-ätien-(4)-säure-methylester<sup>13)</sup> (stammt aus 17-Hydroxycorticosteron = «Subst. M»)
- 5) 13 mg Präparat Nr. 890, farblose Nadeln, Smp. 229–231°

Bei Präparat Nr. 891 war sofort ersichtlich, dass es sich nicht um ein Steroid handeln konnte. Der Stoff sublimierte bei 0,01 Torr bereits bei 60° und war optisch inaktiv. Er zeigte das in Fig. 1 wiedergegebene UV.-Spektrum und

<sup>1)</sup> 97. Mitteilung: A. LARDON & J. v. EUW, *Helv.* **41**, 50 (1958).

<sup>2)</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 1163 (1954).

<sup>3)</sup> A. WETTSTEIN, *Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges.* **136**, 22 (1956).

<sup>4)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **39**, 2062 (1956).

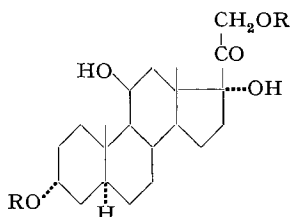
<sup>5)</sup> Diese Arbeit wurde in den Jahren 1954–1955 ausgeführt, kann aber erst jetzt publiziert werden.

<sup>6)</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 1200 (1954).

<sup>7)</sup> Die zugehörige Säure wurde von E. C. KENDALL u. Mitarb.<sup>11)</sup> mehrmals beschrieben. Der Methylester scheint noch nicht beschrieben zu sein. Smp. und Drehung werden daher hier im Exper. Teil angegeben.

wurde als Veratrumsäure-methylester (XX) identifiziert. Er dürfte aus Subst. Y, Subst. Z oder ähnlichen Stoffen stammen (vgl. spätere Mitteilung).

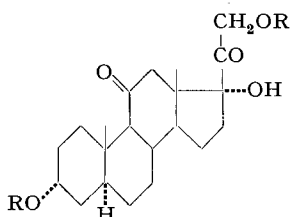
Die drei folgenden krist. Stoffe (2–4) waren nach Smp. und Mischprobe mit den oben genannten, bekannten Steroid-Estern identisch.



I (R = H) «Subst. C»  
F. 273° [+73 Alk] [+59,0 Di]<sup>8-13)</sup>

II (R = Ac) «Di-O-acetyl-C»  
F. 204° [+73,8 Di]<sup>14)</sup>

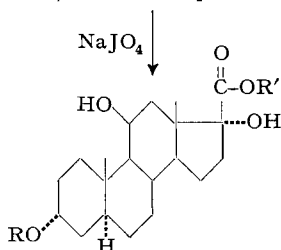
III (R = Form) «Di-O-formyl-C»  
(Nr. 892) F. 218–222° [+72,5 An]<sup>14)</sup>



IV (R = H) «11-Dehydro-C»  
F. 212–214°<sup>14)</sup>

V (R = Ac) Nr. 896 = Nr. 648  
F. 221–223° [+93,6 Di]<sup>13)</sup>

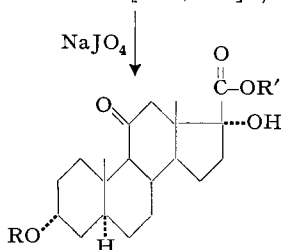
VI (R = Form) Nr. 893  
F. 234–236° [+71,0 An]<sup>14)</sup>



VII (R = R' = H) F. 240–243°<sup>11)</sup>  
F. 240–260° (Zers.)<sup>13)</sup>

VIII (R = H; R' = CH<sub>3</sub>)  
F. 229–231° [+15 Di]<sup>13)</sup>

IX (R = Ac; R' = CH<sub>3</sub>)  
F. 186–187,5° [+19,5 Di]<sup>13)</sup>



X (R = R' = H) Nicht rein isoliert

XI (R = H; R' = CH<sub>3</sub>) Nr. 890  
F. 229–231°<sup>14)</sup>

XII (R = Ac; R' = CH<sub>3</sub>) Nr. 651<sup>13)</sup> =  
Nr. 960<sup>14)</sup> F. 208° [+38,0 An]<sup>14)</sup>

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

Präparat Nr. 890 erwies sich hingegen als neuer Stoff, und zwar als 3 $\alpha$ ,17-Dihydroxy-11-keto-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XI). Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte nur eine Bande bei 295 m $\mu$ , log  $\epsilon$  = 1,57. Der Stoff war nach Mischprobe verschieden von 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17-Trihydroxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (VIII)<sup>13)</sup> (aus «Subst. C») und von 3 $\beta$ ,17-Dihydroxy-11-keto-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester<sup>13)</sup> (aus «Subst. D»), die beide zufällig gleich schmelzen wie Nr. 890.

<sup>8)</sup> O. WINTERSTEINER & J. J. PFIFFNER, J. biol. Chemistry **111**, 599 (1935).

<sup>9)</sup> T. REICHSTEIN, Helv. **19**, 29 (1936).

<sup>10)</sup> H. L. MASON, C. S. MYERS & E. C. KENDALL, J. biol. Chemistry **114**, 613 (1936).

<sup>11)</sup> H. L. MASON, W. M. HOEHN & E. C. KENDALL, J. biol. Chemistry **124**, 459 (1938).

<sup>12)</sup> M. H. KUIZENGA & G. F. CARTLAND, Endocrinology **24**, 526 (1939).

<sup>13)</sup> J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. **25**, 988 (1942).

<sup>14)</sup> Exper. Teil dieser Arbeit.

Acetylierung von XI lieferte (Präp. Nr. 960) den bekannten  $3\alpha$ -Acetoxy-11-keto-17-hydroxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XII), der früher (Präp. Nr. 651)<sup>13</sup> durch Abbau von «Subst. C» gewonnen worden war. Die Identifizierung geschah durch Mischprobe und IR.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 3). Aus diesem Befund war zu schliessen, dass im ursprünglichen Gemisch  $3\alpha, 17, 21$ -Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnandion-(11,20) (IV) («11-Dehydro-C») enthalten war.

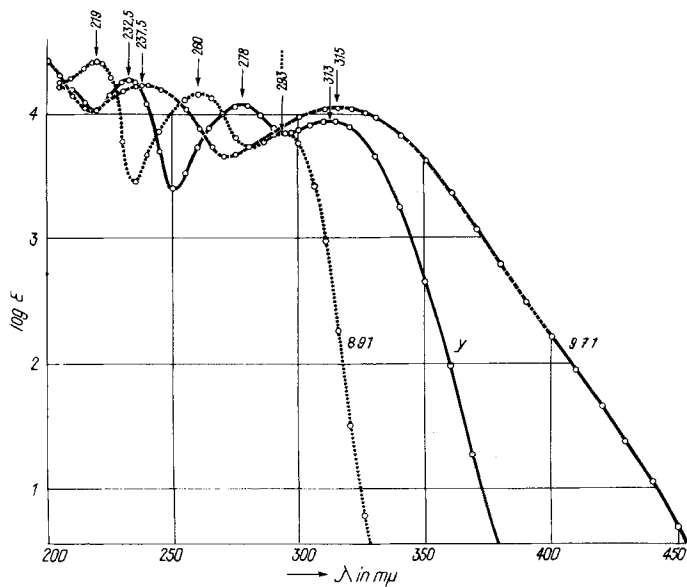


Fig. 1

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>15)</sup>

- Nr. 891 = Veratrumsäure-methylester (XX) isoliert aus Abbau von Aldosteron-Mutterlaugen. Maxima bei 219  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,42$ ), 260  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,14$ ) und 293  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,86$ ), ber. auf  $C_{10}H_{12}O_4 = 196,20$
- Y = Subst. Y (Nr. 895), Smp. 97–98°. Maxima bei ca. 206  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,21$ ), 232,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,27$ ), 278  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,05$ ), 313  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,83$ ), ber. auf  $C_{12}H_{14}O_5 = 238,23$
- Nr. 971 = O-Acetyl-anhydro-Y. Maxima bei 237,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,23$ ) und bei 315  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,05$ ), ber. auf  $C_{14}H_{14}O_5 = 262,25$

Zur Isolierung wurden die Mutterlaugen von Aldosteron aus einem neuen Extrakt (NN VI) verwendet. Die Trennung dieses Extraktes durch Verteilungschromatographie wird im Exper. Teil genau angegeben. Die Mutterlaugen des krist. Aldosterons (Fr. NN VI/83–93/20–40) sowie vier folgende Fraktionen (NN VI/83–93/41–44) wurden zuerst mit Reagens T von GIRARD & SANDULESCO<sup>16)</sup> (ohne Zusatz von Eisessig) in Methanol ca. 18 Std. bei 20° stehengelassen. Unter diesen Bedingungen reagieren Cortison und andere  $\Delta^4$ -ungesättigte

<sup>15)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER in einem Unicam SP-500 Spektrophotometer mit zusätzlichem Sekundär-Elektronen-Vervielfacher 1 P 28.

<sup>16)</sup> A. GIRARD & G. SANDULESCO, *Helv.* **19**, 1095 (1936).

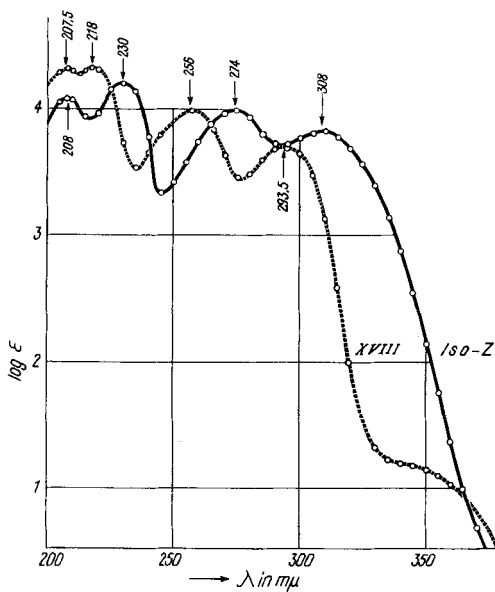


Fig. 2

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>15)</sup>

Iso-Z = Subst. Iso-Z (XIII) Maxima bei 208 mμ (log ε = 4,08), 230 mμ (log ε = 4,21), 274 mμ (log ε = 3,99) und bei 308 mμ (log ε = 3,82), ber. auf C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> = 182,17  
 XVIII = Iso-vanillinsäure (XVIII) aus Subst. Y. Maxima bei 207,5 mμ (log ε = 4,31), 2,18 mμ (log ε = 4,33), 256 mμ (log ε = 4,00) und bei 293,5 mμ (log ε = 3,71), ber. auf C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> = 188,06

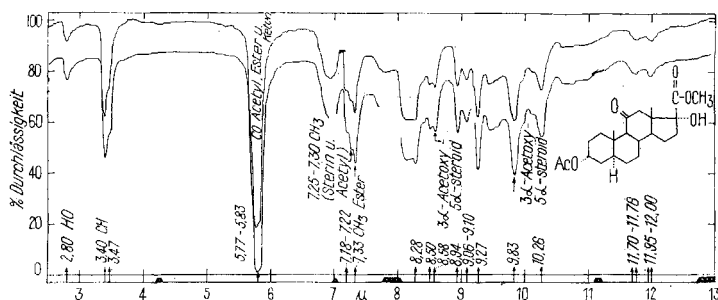


Fig. 3

IR.-Absorptionsspektren von 3α-Acetoxy-11-keto-17-hydroxy-5α-ätiansäure-methylester (XII) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>17)</sup>

Obere Kurve = Präp. 651, teilsynthetisch aus «Subst. C» bereitet<sup>13)</sup> (c = 4,5 · 10<sup>-2</sup>-m).  
 Untere Kurve = Präp. 960, isoliert aus Abbau von Aldosteron-Mutterlaugen (c = 6 · 10<sup>-2</sup>-m.).  
 Schichtdicke jeweils 0,227 mm, Mikrozelle

<sup>17)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER (Organ.-chem. Anstalt) mit einem PERKIN-ELMER-double-beam-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, und NaCl-Prisma.

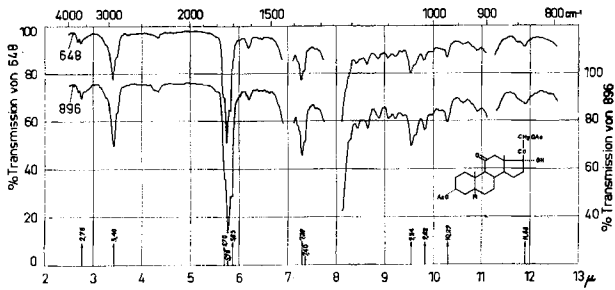


Fig. 4

IR.-Absorptionsspektren von «Di-O-acetyl-11-dehydro-C» (V) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>18)</sup>  
 Obere Kurve = Präp. Nr. 648, teilsynthetisch aus «Subst. C» bereitet<sup>18)</sup>  
 Untere Kurve (um 20% nach unten versetzt) = Präp. Nr. 896, isoliert aus  
 Aldosteron-Mutterlaugen. Schichtdicke jeweils 0,2 mm, Mikrozelle

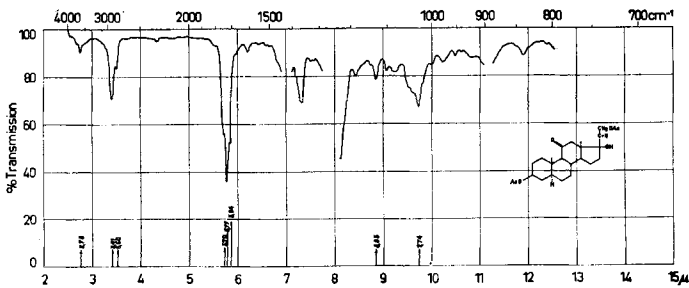


Fig. 5

IR.-Absorptionsspektrum von  $3\beta,21$ -Diacetoxy-17-hydroxy-11,20-diketo- $5\alpha$ -pregnan  
 in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>18)</sup>. Schichtdicke 0,2 mm

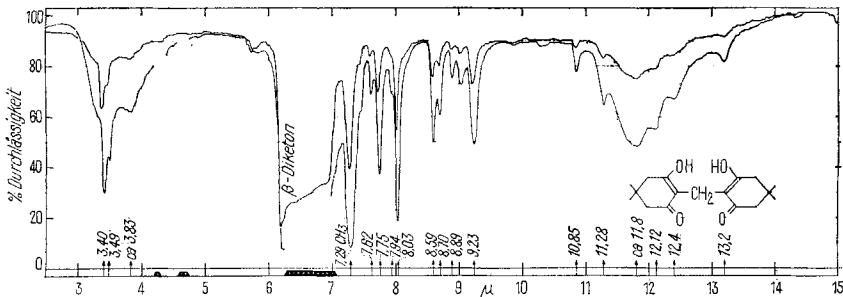


Fig. 6

IR.-Absorptionsspektren von Formaldehyd-Dimedon-Verbindung in  $\text{CS}_2$ <sup>17)</sup>  
 Obere Kurve = Präp. Nr. 964, aus Abbau von Subst. Y ( $c = 3,4 \cdot 10^{-2}$ -m.). Schichtdicke  
 0,227 mm, Mikrozelle.  
 Untere Kurve = Vergleichspräp. Nr. 989, aus Formaldehyd  
 bereitet ( $c = 8,37 \cdot 10^{-2}$ -m.). Schichtdicke 0,206 mm

<sup>18)</sup> Aufgenommen unter der Leitung von Herrn Dr. E. GANZ (CIBA) mit einem PERKIN-ELMER-double-beam-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, und NaCl-Prisma.

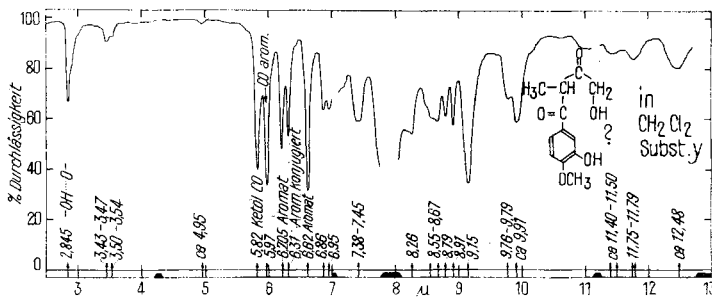


Fig. 7

IR-Absorptionsspektrum von Subst. Y in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>17)</sup>. Schichtdicke 0,227 mm, Mikrozelle

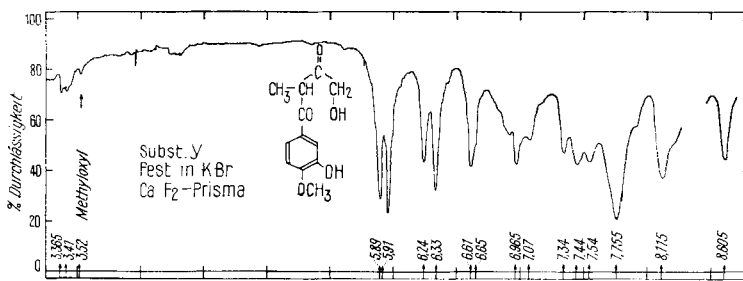


Fig. 7 a

IR-Absorptionsspektrum von Subst. Y fest, 0,6 mg in ca. 250 mg KBr<sup>18)</sup> mit  $\text{CaF}_2$ -Prisma

3-Ketosteroide praktisch quantitativ, während IV und andere Stoffe dieses Typs nicht merklich in Reaktion treten und somit im «ketonfreien» Anteil verbleiben<sup>20)</sup>. Acetylierung dieser «ketonfreien» Anteile und Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  lieferte neben wenig anderen krist. Stoffen (vgl. Tab. 8) 9 mg reines Di-O-acetyl-Derivat (Präp. Nr. 896) V, das sich nach Smp., Mischprobe und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 4) mit authentischem Material (Präp. Nr. 648) als identisch erwies. Im IR.-Spektrum von V (Fig. 4) sind von den für  $3\alpha$ -Acetoxy- $5\alpha$ -steroide typischen Banden<sup>21)</sup> diejenigen bei 8,64, 9,82 und  $10,29 \mu$  sehr deutlich. Das isomere  $3\beta, 21$ -Diacetoxy-17-hydroxy-11, 20-diketo- $5\alpha$ -pregnan (= «Di-O-acetyl-D») zeigt dagegen Banden bei 8,85 und  $9,74 \mu$ , die für die  $3\beta$ -Acetoxy- $5\alpha$ -steroide charakteristisch sind<sup>21)</sup>.

Um eine kleine Menge freies «11-Dehydro-C» (IV) zum Vergleich im Papierchromatogramm zu erhalten, wurde die Teilsynthese aus «Subst. C» (I) über die Formiate durchgeführt, da die axiale  $3\alpha$ -ständige Acetoxygruppe in V schwer verseifbar ist.

<sup>18)</sup> Aufgenommen von den Herren K. STICH und G. ROTZLER in einem PERKIN-ELMER-double-beam-IR.-Spektrophotometer, Modell 21. Durchmesser der KBr-Tabletten 1,2 cm.

<sup>20)</sup> Aldosteron geht bei dieser Trennung weitgehend verloren.

<sup>21)</sup> R. N. JONES & F. HERLING, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1152 (1956).

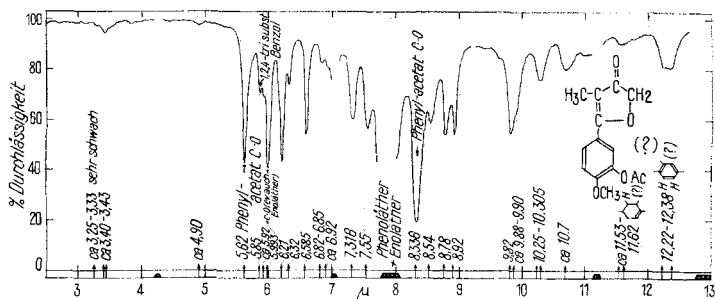


Fig. 8

IR.-Absorptionsspektrum von O-Acetyl-anhydro-Y (Präp. Nr. 971) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>17)</sup>  
Schichtdicke 0,227 mm,  $c = 0,106\%$

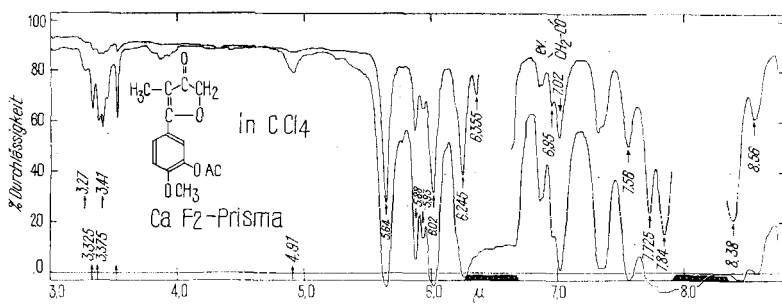


Fig. 8a

IR.-Absorptionsspektren von O-Acetyl-anhydro-Y (Präp. Nr. 971) in  $\text{CCl}_4$ <sup>18)</sup>,  $c = 0,718\%$   
Schichtdicke 0,208 und 1,0 mm.  $\text{CaF}_2$ -Prisma

Die Formylierung von «Subst. C» (I) gab ein Di-O-formyl-Derivat Nr. 892 (III), das gut kristallisierte. Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig lieferte Nr. 893 (VI), das mit  $\text{KHCO}_3$  in wässrigem Methanol<sup>22)</sup> verseift wurde. Es entstand ein Gemisch, das nach Papierchromatogramm neben freiem «Dehydro-C» (IV) noch merkliche Mengen 3-O-Formyl-Derivat (Nr. 894) enthielt. Beim Kristallisieren wurde letzteres angereichert. Daher wurde das ganze Gemisch durch Verteilungschromatographie getrennt, wobei sich IV in reiner Form abtrennen liess. Für eine Drehungsbestimmung und Analyse war die erhaltene Menge ungenügend. Die Laufstrecke im Papierchromatogramm und die Farbreaktionen waren aber dieselben wie bei der Substanz in den Extrakten.

Die oben angewandten Reaktionen wurden an einigen Modellen zuerst ausprobiert. So wurde zunächst Androsteron formyliert und das gut krist. 3-O-Formylandrosteron mit  $\text{KHCO}_3$  in wässrigem Methanol wieder verseift. Es zeigte sich, dass die Verseifung nach 14 Std. bei  $20^\circ$  noch sehr unvollständig, nach 60 Std. jedoch nahezu beendet war. Weiter wurde 17-Hydroxycorticosteron formyliert, wobei das gut krist. 21-O-Formyl-17-hydroxy-corticosteron entstand. Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  lieferte in guter Ausbeute 21-O-Formyl-

<sup>22)</sup> T. REICHSTEIN & J. V. EUW, Helv. **21**, 1181 (1938).

cortison, das auch durch Formylierung von Cortison erhalten wurde. Es liess sich mit  $\text{KHCO}_3$  in wässrigem Methanol erwartungsgemäss sehr leicht verseifen. Beim Versuch, die Formylderivate an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  zu chromatographieren, traten teilweise grosse Verluste ein. Eine Chromatographie gelingt aber relativ gut an Silicagel.

Die bei der Trennung der Fraktionen NN VI/83–93/41–44 mit Reagens T erhaltenen «neutralen» Ketone<sup>23)</sup> waren nach Papierchromatogramm sehr reich an Subst. Y. Dieser Stoff liess sich daraus am besten durch Sublimation im Molekularkolben bei 0,01 Torr und ca. 135° isolieren.

Substanz Y ist sicher kein Steroid; die Analysen passten am besten auf die Formel  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5$  mit einer Methoxygruppe. Der Stoff zeigte in Chf keine erkennbare Drehung. Das UV.-Absorptionsspektrum ist in Fig. 1 wiedergegeben. Es entspricht im Typus dem des Vanillin bzw. Isovanillin<sup>24)</sup>. Einen guten Einblick in die Konstitution gab der Abbau mit  $\text{NaJO}_4$ . Er lieferte in mässiger Ausbeute Isovanillinsäure (XVIII)<sup>25)</sup> und Formaldehyd. Erstere zeigte das in Fig. 2 wiedergegebene UV.-Absorptionsspektrum. Sie wurde zur Charakterisierung ins O-Acetyl-Derivat XV und in ihren Methylester XVI übergeführt. Alle drei Stoffe waren nach Mischprobe mit synthetischem, authentischem Material identisch. Der Formaldehyd wurde als Dimedonverbindung isoliert, die nach Mischprobe und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 6) mit authentischem Material identisch war. Der einfachste Stoff, der mit  $\text{NaJO}_4$  in Isovanillinsäure (XVIII) und Formaldehyd zerfallen sollte, besitzt Formel XIII. Subst. Y kommt aber sicher nicht diese Formel zu, denn der Stoff XIII (Iso-Z) wurde synthetisiert<sup>26)</sup> und war von Y eindeutig verschieden.

Die Seitenkette bzw. der Furanonring in den Formeln XIV für «Subst. Y» und XVII für «O-Acetyl-anhydro-Y» sind vorläufig hypothetisch.

Zum Vergleich wird das UV.-Absorptionsspektrum von «Iso-Z» (XIII) in Fig. 2 schon hier wiedergegeben. Wie ersichtlich, besitzt Subst. Y dasselbe chromophore System wie Iso-Z (XIII). Nach dem IR.-Spektrum (vgl. Fig. 7) enthält Y aber ausser der dem Benzolkern benachbarten Ketogruppe (Bande bei 5,97  $\mu$ ) noch eine zweite Carbonylfunktion (Bande bei 5,82  $\mu$ ). Wir vermuten, dass sie als Ketolgruppe  $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$  vorliegt, da Subst. Y starkes Reduktionsvermögen zeigt. Auch die Bildung von Formaldehyd beim Abbau mit  $\text{NaJO}_4$  wäre dadurch leicht verständlich. Damit wären alle 5 analytisch ermittelten O-Atome funktionell untergebracht. Will man die Bildung der Isovanillinsäure (beim Abbau mit  $\text{NaJO}_4$ , evtl. auch bereits mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) erklären, so muss für Subst. Y eine  $\beta$ -Diketongruppierung z. B. wie in Formel XIV

<sup>23)</sup> Da Subst. Y leicht saure Eigenschaften zeigt, dürfen diese Ketone nur mit wenig  $\text{KHCO}_3$ -Lösung gewaschen werden. Durch wiederholtes Ausschütteln mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung lässt sich Subst. Y der Chf-Ae-Lösung entziehen.

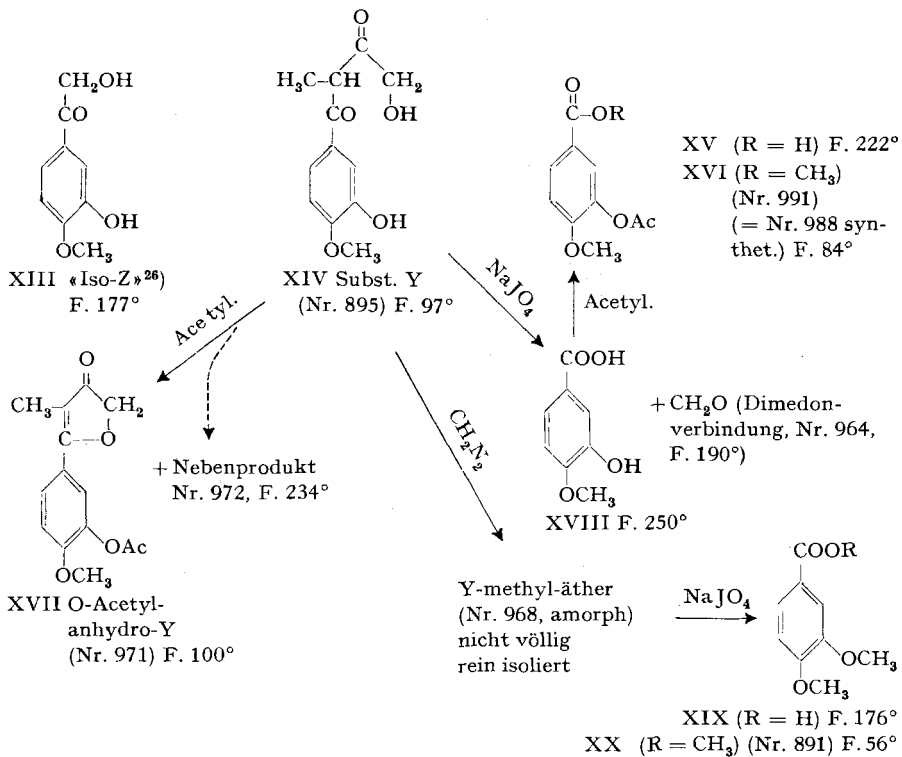
<sup>24)</sup> L. DOUB & J. M. VANDENBELT, J. Amer. chem. Soc. **77**, 4535 (1955).

<sup>25)</sup> Kleine Mengen Isovanillinsäure wurden bereits bei der Behandlung der rohen Y-Konzentrate mit Reagens T sowie mit Sodalösung erhalten. Wegen Substanzmangel konnte noch nicht geprüft werden, ob reines Y unter diesen Bedingungen bereits Isovanillinsäure abspaltet.

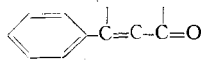
<sup>26)</sup> Siehe spätere Mitteilung.



angenommen werden. Dies ist nicht befriedigend, weil Y mit  $\text{FeCl}_3$  keine Färbung gibt. Für XIV spricht aber folgender Befund. Formel XIV enthält eine C-Methylgruppe. Tatsächlich wurde für Subst. Y nach KUHN-ROTH genau der einer C-Methylgruppe entsprechende Wert gefunden. Ein sicherer Konstitutionsbeweis war mit dem bisher zur Verfügung stehenden Material noch nicht



möglich. Subst. Y wurde durch 1-proz. HCl in Methanol in 2 Tagen bei 20° weitgehend verändert, wobei nur noch ein Teil sublimierbares Material (Smp. ca. 250°) entstand. Relativ gut verlief die Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin. Neben wenig nicht sublimierbarem Nebenprodukt (Nr. 972, Smp. 234°) entstand ein hellgelbes sublimierbares Derivat (Nr. 971), dessen Analyse auf die Formel  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_5$  passte; wir bezeichnen es daher als «O-Acetyl-anhydro-Y». Das UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 1) zeigt, dass in diesem Stoff ein chromophores System enthalten ist, das gleich oder sehr ähnlich wie die Gruppierung



absorbiert<sup>27)</sup>.

<sup>27)</sup> A. L. WILDS, L. W. BECK, W. J. CLOSE, C. DJERASSI, J. A. JOHNSON JR., TH. L. JOHNSON & C. H. SHUNK, J. Amer. chem. Soc. **69**, 1985 (1947).

Danach wäre es nicht ausgeschlossen, dass dem «O-Acetyl-anhydro-Y» eine Formel vom Typus XVII zukäme. Einwirkung von  $\text{CH}_2\text{N}_2$  auf Y lieferte ein amorphes Präparat (Nr. 968), das wir als «Y-Methyläther» bezeichnen. Im Papierchromatogramm war es weniger polar als Y, zeigte noch starkes Reduktionsvermögen gegen Blautetrazolium, aber nicht mehr gegen  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe(CN)}_6$  (siehe unten), und lieferte mit  $\text{NaJO}_4$  krist. Veratrumsäure (XIX), die als Methylester XX charakterisiert wurde.

Subst. Y ist nur ein Vertreter einer offenbar grösseren Stoffgruppe, die in allen bisher geprüften Nebennieren-Extrakten in kleinen Mengen angetroffen wurde. Diese Stoffe sind dadurch charakterisiert, dass sie sowohl eine Ketolgruppe wie eine phenolische HO-Gruppe enthalten. Diese zwei Gruppen lassen sich im Papierchromatogramm selektiv nachweisen. Die Ketolgruppe wird durch ihr starkes Reduktionsvermögen gegenüber Ag-Salzen und bes. gegenüber Blautetrazolium nachgewiesen. Die gewöhnlichen einwertigen Phenole sowie die Guajacolderivate geben mit Blautetrazolium keine Flecke. Umgekehrt wird die phenolische Gruppe nach BARTON und Mitarb.<sup>28)</sup> leicht mit  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe(CN)}_6$  erkannt (Fleck preussischblau)<sup>29)</sup>, das auf Ketole nicht anspricht. Über die Isolierung anderer Vertreter dieser Gruppe wird demnächst berichtet.

Biologisch kommen Substanz Y keine hervorstechenden Nebennierenwirkungen zu<sup>32)</sup>. Sie hält an der nebennierenlosen Ratte Natrium zurück. Im Vergleich mit Cortexon wirkt sie dabei mindestens 10mal schwächer. Im Leberglykogenetest (nebennierenlose Maus) kommen ihr etwa  $1/25\text{-}1/100$  der Cortisonwirkung zu.

Schliesslich wurde noch begonnen, die leichtest eluierbaren Anteile einer orientierenden Prüfung zu unterziehen<sup>33)</sup>. Die Fraktionen NN VI/1–18 wurden zusammengefasst. Sie enthielten reichliche Mengen Phenol. Dieses wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 70° abdestilliert. Anschliessend wurde noch bis ca. 200° (Badtemp.) destilliert, wobei die Hauptmenge der vorhandenen Steroide übergang<sup>34)</sup>. Das zwischen 70 und 200° erhaltene Destillat (2,205 g) wurde zunächst mit Reagens T (in Gegenwart von Eisessig) getrennt, wobei 448 mg Ketone und 1144 mg ketonfreie Anteile erhalten wurden. Jeder Teil wurde einer Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  unterworfen.

Ähnlich wurden die Fraktionen NN VI/19–29 behandelt. Aus diesen konnte zunächst 194 mg krist. 11-Dehydro-corticosteron und 6 mg rohe «Subst. P» ab-

<sup>28)</sup> D. H. R. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, *Nature* **170**, 249 (1952).

<sup>29)</sup> Das Gemisch von  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe(CN)}_6$  reagiert offenbar besonders rasch mit **Ein-**elektronendonatoren, zu denen auch die Phenole gehören. Von J. B. CONANT<sup>30)</sup> sowie von V. FRANZEN<sup>31)</sup> wurde es zum Nachweis von Radikalen verwendet.

<sup>30)</sup> Vgl. W. WATERS, *Chemistry of free Radicals*, p. 52 (Oxford 1948).

<sup>31)</sup> V. FRANZEN, *Chem. Ber.* **88**, 1697 (1955).

<sup>32)</sup> Wegen der geringen Menge, die zur Verfügung stand, konnte nur eine orientierende Prüfung erfolgen. Sie wurde in den Laboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, durchgeführt.

<sup>33)</sup> Ursprünglich war beabsichtigt, auch diese Anteile unter papierchromatographischer Kontrolle möglichst genau zu trennen, um alle nachweisbaren Stoffe zu isolieren. Wegen Zeitmangel musste dies bisher unterbleiben.

<sup>34)</sup> Der geringe dunkle Kolbenrückstand wurde verworfen.

getrennt werden. Die Mutterlauge (1,649 g) wurde wieder mit Reagens T (ohne Eisessig) getrennt. Es resultierten 794 mg Ketone und 702 mg «ketonfreie Anteile». Beide wurden einer Verteilungschromatographie unterworfen. Ausser bekannten Stoffen<sup>35)</sup> wurden bei diesen Versuchen eine grössere Anzahl von Kristallisaten in kleiner Menge erhalten, von denen einige vermutlich neue Stoffe darstellten. Sie sollen später untersucht werden.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Adsorptionschromatographie<sup>36)</sup> an alkalifreiem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>37)</sup> oder Silicagel<sup>38)</sup>. Papierchromatographie<sup>2)</sup>, Verteilungschromatographie<sup>2)</sup> nach früheren Angaben.

Reagens T<sup>16)</sup> wurde zur Reinigung frisch aus abs. Alk umkristallisiert. – Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: Ac =  $\text{CH}_3\text{CO}-$ , AcOH = Eisessig,  $(\text{Ac})_2\text{O}$  = Acetanhydrid, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = entsäuertes Formamid, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Pgl = Propylenglykol, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. «Gemisch» = Mischung gleicher Teile Chf, Me und Äthylacetat. Ber. = interne Berichtsnummer, ML = Mutterlaugenrückstand, NN = Nebennieren-Extrakt, PCh = Papierchromatogramm, n.u. = noch nicht untersucht.

- «Subst. A» = 5 $\alpha$ -Pregnanpentol-(3 $\beta$ , 11 $\beta$ , 17, 20 $\beta$ , 21)
- «Subst. C» = 3 $\alpha$ , 11 $\beta$ , 17, 21-Tetrahydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)
- «Dehydro-C» = 3 $\alpha$ , 17, 21-Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(11, 20)
- «Subst. D» = 3 $\beta$ , 17, 21-Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(11, 20)
- «Subst. E» = 11 $\beta$ , 17, 20 $\beta$ , 21-Tetrahydroxy-pregnen-(4)-on-(3)
- «Subst. J» = 5 $\alpha$ -Pregnantriol-(3 $\beta$ , 17, 20 $\beta$ )
- «Subst. K» = 5 $\alpha$ -Pregnantetrol-(3 $\beta$ , 17, 20 $\beta$ , 21)
- «Subst. L» = 3 $\beta$ , 17-Dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)
- «Subst. M» = 17-Hydroxycorticosteron
- «Subst. N» = 3 $\beta$ , 21-Dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(3, 20)
- «Subst. O» = 5 $\alpha$ -Pregnantriol-(3 $\beta$ , 17, 20 $\alpha$ )
- «Subst. P» = 3 $\beta$ , 17, 21-Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)
- «Subst. R» = 3 $\beta$ , 11 $\beta$ , 21-Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)
- «Subst. S» = 17, 21-Dihydroxy-pregnen-(4)-dion-(3, 20)
- «Subst. T» = 20, 21-Dihydroxy-pregnen-(4)-dion-(3, 11)
- «Subst. U» = 17, 20 $\beta$ , 21-Trihydroxy-pregnen-(4)-dion-(3, 11)
- «Subst. V» = 3 $\beta$ , 11 $\beta$ , 17, 21-Tetrahydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)

Die in der früheren Mitteilung<sup>2)</sup> in Tab. 5 erwähnten, nur mit Nummern bezeichneten Stoffe aus Rinder-NN (NN III) zeigten die in Tab. 1 genannten  $R_S$ -Werte<sup>39)</sup> und Farbreaktionen. Zum Vergleich sind darin auch Iso-Z, Corticosteron, Cortison, 17-Hydroxycorticosteron, Subst. D und Aldosteron aufgenommen.

**1. Gewinnung der Säuren aus Aldosteron-Mutterlaugenrückständen mit  $\text{NaJO}_4$ .** Der Abbau von insgesamt 264 mg Aldosteron-ML in zwei Versuchen (mit 69 und 195 mg) wurde bereits früher beschrieben<sup>6)</sup> Für den ersten Versuch dienten die Fraktionen 29 und 41, sowie die ML der Fr. 30–40 aus zweiter Verteilungschromatographie von 324 mg NN III/86–90 an Cellulose-Säule (Tab. 6)<sup>2)</sup> (40 mg), sowie 29 mg eines völlig analogen

<sup>35)</sup> Von diesen ist, soweit wir sehen, bisher lediglich 3 $\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-11, 17-dion noch nicht aus Nebennieren-Extrakten isoliert worden.

<sup>36)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Faraday Soc. Nr. 7, 1949, 305.

<sup>37)</sup> J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1292, Fussnote 2 (1944).

<sup>38)</sup> Silicagel engporig zur Chromatographie, bezogen von BENDER & HOBEIN, Zürich.

<sup>39)</sup>  $R_S$ -Wert = Verhältnis der Laufstrecke der betr. Subst. zu derjenigen des Vergleichsstoffes (S = Standard).

Tabelle 1. Charakterisierung der in früherer Mitteilung<sup>2)</sup> nicht identifizierten Stoffe im Papierchromatogramm<sup>40)</sup> \*)

Substanz	R <sub>S</sub> -Werte <sup>39)</sup>				UV	RV	NaOH	SbCl <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	FeCl <sub>3</sub> + K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>28)</sup> <sup>29)</sup>
	(für S = Hydroxycorticosteron)		Fmd/ E <sub>2</sub> B <sup>43)</sup>							
	Bush C <sup>41)</sup>	Bush B <sub>5</sub>	Pgl/To	Chf						
S 71					+	-	a) rot lila b) orange	a) - b) gelblich		
Z (Nr. 857)	0,94	1,30	5,17	1,04	0,57	+	a) - b) blau	a) - b) hellblau		+
Iso-Z	0,65	0,80	3,21	0,92	0,43	+	b) hellblau	b) violett		+
S 74 = S 84 = A 22	1,03		5,05	1,30		-	a) - b) grünblau schwach	a) - b) -		+
S 83	0,51					-	a) - b) -	a) - b) -		
S 85 <sup>44)</sup> 45)	2,70		4,90		+	-	a) - b) -	a) - b) -		
S 87 = *Subst. Y*	0,80	1,05	3,45	1,37	0,46	+	a) - b) grün	a) blaugrau b) blaugviolett		+
S 36 <sup>46)</sup>		~1,81	~1,83			-	a) - b) gelb	a) - b) grün schwach		
S 90 = *Subst. C*	0,55	0,65	0,40	0,40	1,37	+	a) - b) -	a) - b) gelbl.-lila		-
*11-Dehydro-C*	1,03	1,12	0,67	1,22	1,69	+	a) - b) orange schwach	a) - b) blau		-
*Subst. D*	0,70	0,60	0,40	0,79	1,78	+	a) - b) -	a) - b) hellblau		-
Corticosteron	2,62		>6			+	a) - b) graublau	a) - b) blau		-
Cortison	1,60	1,91	2,51	2,39	1,32	+	a) gelblich b) gelbgrau	a) - b) blau		-
Aldosteron	1,03	1,52	2,59	2,27	0,73	+	a) - b) -	a) - b) -		-
17-Hydroxy- corticosteron	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	+	a) gelblich b) orange	a) - b) gelbgrün		-

\*) Anmerkungen siehe Seite 1528

Materials (Fr. 28 + 41 aus zweiter Verteilungschromatographie von 143 mg NN I/71-72 und NN II/53-57, nicht beschrieben), zusammen 69 mg. Sie gaben 21 mg Säuren. Für den zweiten Versuch dienten die Fr. 24-27, 38, sowie die ML von Fr. 28-37 aus zweiter Verteilung von 675 mg NN V/68-77 an Cellulosesäule (S. 1193)<sup>2)</sup>, zusammen 195 mg. Sie gaben 76 mg Säuren.

In mehreren weiteren Versuchen wurden inzwischen noch die folgenden Präparate analog mit  $\text{Na}_2\text{JO}_4$  abgebaut.

*Versuch 6:* 236 mg Gemisch, das sich aus folgenden Fraktionen zusammensetzte: Fr. 25-27 und Fr. 43-44 aus zweiter Verteilungschromatographie von 143 mg NN I/71-72 und NN II/53-57 (nicht beschrieben, 3,8 mg), Fr. 25-28 und Fr. 42-45 aus zweiter Verteilungschromatographie von 324 mg NN III/86-90 an Cellulosesäule (Tab. 6)<sup>2)</sup> (34 mg).

Fr. 6-12 und 20-27 aus zweiter Verteilungschromatographie von 193 mg NN IV/45-49 an Cellulosesäule (nicht beschrieben, 66 mg).

Die Fr. 20-23 und 39-42 aus zweiter Verteilung von 675 mg NN V/68-77 an Cellulosesäule (S. 1193)<sup>2)</sup> (137 mg).

Diese 236 mg gaben 74 mg Säuren und 70 mg Neutrales, letzteres gab nur Spuren krist. Lacton Nr. 874<sup>6)</sup>.

*Versuch 8:* 93 mg Fr. 67 aus erster Verteilung von NN V (S. 1192)<sup>2)</sup>. Sie gaben 36 mg Säuren und 32 mg Neutrales. Letzteres lieferte bisher keine Kristalle.

*Weitere Versuche* mit insgesamt 100 mg Aldosteron-ML gaben 44 mg Säuren und 24 mg Neutrales. Letzteres lieferte 3 mg krist. Lacton Nr. 874<sup>6)</sup>.

**2. Trennung der aus Aldosteron-ML mit  $\text{Na}_2\text{JO}_4$  erhaltenen Säuren als Methylester.** Die vereinigten rohen Säuren (260 mg) wurden in 0,5 ml Me gelöst mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Min. bei ca. 20° stehengelassen. Dann wurde mit verd. HCl, W, Sodalösung und W gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Eindampfen gab 250 mg rohes Methylester-Gemisch, das an 7,5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 25 ml Lösungsmittel.

Die Fr. 1, eluiert mit Pe-Be-(70:30) gab nur eine Spur amorphes Material, nicht untersucht.

Die Fr. 2-3 (32 mg, eluiert mit Pe-Be-(50:50) und -(30:70)) gab aus Ae-Pentan 20 mg Präp. Nr. 891 in farblosen Nadeln, Smp. 56-57°. Die ML wurde im Molekularkolben bei 0,03 Torr auf 60-70° Badtemperatur erhitzt. Das Destillat (7 mg) gab aus Ae-Pe noch 4 mg Nr. 891 vom gleichen Smp. 56-57°.

Die Fr. 4-5 (ca. 4 mg, eluiert mit Be) gaben aus wenig An-Ae 0,2 mg Lacton Nr. 874, Smp. 295-303°, Misch-Smp. mit authentischem Material<sup>6)</sup> ebenso.

Die Fr. 6-18 (44 mg, eluiert mit Be sowie Be-Ae von 5-50% Ae-Gehalt) gaben aus An-Ae-(1:1) 14 mg krist. 3,11-Diketo-17-hydroxy-ätiën-(4)-säure-methylester. Die Hauptmenge lieferten die Fraktionen 17 und 18. Nach Umkristallisieren wurden 6 mg vom Smp. 223-226° erhalten. Authentisches Material aus Cortison zeigte Smp. 226-229°,  $[\alpha]_D^{27} = +164^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,1063 in An), die Mischprobe schmolz bei 223-229°.

Fr. 19 (10 mg, eluiert mit reinem Ae) gab aus An-Ae 2 mg 3-Keto-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-ätiën-(4)-säure-methylester in flachen Nadeln, Smp. 198-203°. Authentisches Material aus 17-Hydroxycorticosteron schmolz bei 207-208°, die Mischprobe bei 200-206°.

<sup>40)</sup> System  $\text{E}_2\text{B}^{48)}$  bei 38°, alle anderen bei 22°. Ausführung sonst wie früher<sup>2)</sup> beschrieben, vgl. Lit. daselbst. Es bedeuten: UV = UV.-Photokopie, RV = Reduktionsvermögen gegenüber Blautetrazolium, NaOH = Fluoreszenz im UV. nach Sprühen mit NaOH und Trocknung bei 80°<sup>41)</sup>,  $\text{SbCl}_3$  = a) Färbung und b) Fluoreszenz im UV. nach NEHER & WETTSTEIN<sup>42)</sup>,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  = entspr. Farbreaktion<sup>42)</sup>.

<sup>41)</sup> I. E. BUSH, Biochem. J. **50**, 370 (1952).

<sup>42)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. **34**, 2278 (1951).

<sup>43)</sup> W. R. EBERLEIN & A. M. BONGIOVANNI, Arch. Biochemistry Biophysics **59**, 90 (1955).

<sup>44)</sup> Subst. 85 ist kristallisiert worden, Smp. 258-264° (aus NN III).

<sup>45)</sup> Vgl. Tab. 6 der früheren Mitteilung (Zweite Verteilungschromatographie).

Die Fr. 20–25 (50 mg, eluiert mit reinem Äther) gaben aus Aceton 13 mg 3 $\alpha$ ,17-Dihydroxy-11-keto-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XI) (Präp. Nr. 890) in feinen, farblosen Nadeln, Smp. 229–231°. Identifizierung siehe unten.

Die Fr. 26–35 (eluiert mit Ae + «Gemisch», von 1–100% Gehalt an «Gemisch») gaben nur 12 mg amorphes Material (n. u.).

*Identifizierung und Acetylierung von Präp. Nr. 890 (XI).* 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17-Trihydroxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (VIII aus «Subst. C») <sup>13</sup> zeigte Smp. 229–231°, die Mischprobe mit Nr. 890 schmolz bei 203–217°. 3 $\beta$ ,17-Dihydroxy-11-keto-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (aus «Subst. D») <sup>13</sup> zeigte Smp. 227–232°, die Mischprobe mit Nr. 890 schmolz bei 200–222°. Es wurde also in beiden Fällen eine deutliche Depression beobachtet. Das Präparat Nr. 890 zeigte in Alkohol im UV. nur ein schwaches Maximum bei 295 m $\mu$  und log  $\epsilon$  = 1,57 (ber. für C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> = 364,47), was für eine isolierte Ketogruppe sprach.

17 mg Präparat Nr. 890 wurden in 0,15 ml abs. Py und 0,1 ml (Ac)<sub>2</sub>O 17 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 20 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 12,5 mg Präp. Nr. 960 in farblosen flachen Nadeln, Smp. 208–209°. Authentischer 3 $\alpha$ -Acetoxy-17-hydroxy-11-keto-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XII = Präp. Nr. 651) <sup>13</sup> und die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die IR.-Spektren (vgl. Fig. 3) waren gleich.

*Präparat Nr. 891.* Sublimiert bei 0,03 Torr und 60–70° Badtemperatur. Aus Ae-Pentan farblose Nadeln, Smp. 56–57°, zeigte in An keine messbare Drehung.

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (196,20) Ber. C 61,21 H 6,17% Gef. C 61,49 H 6,34%

Tetranitromethanprobe: stark positiv (gelb). Das UV.-Absorptionsspektrum ist in Fig. 1 wiedergegeben. Veratrumsäure-methylester und die Mischprobe schmolzen genau gleich.

**3. Trennung von NN VI.** Der von der N. V. ORGANON im Januar 1954 erhaltene frische Rohextrakt aus 500 kg Rinder-Nebennieren (extrahiert nach CARLAND & KUIZENGA <sup>46</sup>) wog 197 g. Die wie früher <sup>2)</sup> beschriebene Vorreinigung gab 63 g pentanlös. Anteile (verworfen), 32,5 g neutrales Konzentrat (diente zur Verteilung), 0,585 g Basen, 5,5 g Säuren und 0,218 g Essigester-Extrakt (n. u.).

Die 32,5 g neutrales Konzentrat wurden genau wie früher <sup>2)</sup> einer Verteilungschromatographie an 2,8 kg Kieselgur-Wasser unterworfen und so in 136 Fraktionen aufgeteilt (Tab. 2).

Die in Tab. 2 angekreuzten Fraktionen zwischen NN VI/78 und 92 (teilweise ihre ML) wurden zur Kontrolle auf Aldosteron Gehalt im PCh untersucht. Sie enthielten neben 5 bekannten Stoffen (hier wie folgt bezeichnet: 1 = Cortison, 3 = Subst. D oder C, 5 = Subst. Y, 6 = Aldosteron, 8 = 17-Hydroxycorticosteron) insgesamt 4 weitere nicht identifizierte Substanzen, die als 2, 4, 7 und 9 bezeichnet werden. Das Ergebnis ist in Tab. 3 zusammengestellt. In Klammern schwache Flecke. Charakterisierung siehe Tab. 4.

Die Hauptmenge Aldosteron war in den Fr. NN VI/86–88. Für die Isolierung des Aldosterons dienten die Fr. NN VI/83–93. Siehe unten.

**Orientierende Trennung der Fraktionen NN VI/1–18.** Die Fr. 1–18 wurden in mehreren Portionen im Molekularkolben bei 0,02 Torr destilliert. Die bei 70° Badtemperatur übergehenden Anteile (3,27 g) kristallisierten und bestanden aus praktisch reinem Phenol (verworfen). Die Hauptmenge Phenol war in den Fraktionen 7–10 enthalten. Dann wurde bei 200° Badtemperatur destilliert und alle übergehenden Anteile vereinigt (2,205 g). Der schwarze Kolbenrückstand wurde verworfen.

Die 2,205 g destilliertes Material wurden in 35 ml Me mit 3,5 g Reagens T und 1,76 ml AcOH 30 Min. unter Rückfluss gekocht, dann wurde abgekühlt und in einer Mischung von Eis mit 95% der zur Neutralisation des AcOH erforderlichen Menge 2-n. NaOH versetzt und 4mal mit Ae ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und W gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ae-Lösung gab beim Eindampfen 1144 mg ketonfreie Anteile. Die wässrige Phase wurde hierauf mit 10 Vol.% konz. HCl versetzt und erneut mit Ae ausgeschüttelt. Aufarbeitung wie oben gab 448 mg Ketone. Der Verlust betrug somit 613 mg, wahrscheinlich vorwiegend saure Anteile.

<sup>46</sup>) G. F. CARLAND & M. H. KUIZENGA, J. biol. Chemistry **116**, 57 (1936).

Tabelle 2. Erste Verteilungschromatographie von NN VI

Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand	
	Art	Menge in ml	Menge in mg	PCh	Habitus und präparatives Resultat
1	Pe	1900	580		amorph } Fr. NN VI/1-18 ver- einigt. Leicht flüchtiger Teil (Phenol) bei 0,01 Torr abdest. Anschl. Haupt- menge bei 0,01 Torr bis 200° destilliert. Destillat mit Reagens T getrennt. Dann ketonfreie Anteile (1144 mg) u. Ketone (448 mg) an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> chro- matographiert
2	Pe	1410	353		
3	Pe	1410	449		
4	Pe	1410	660		
5	Pe	1410	507		
6	Pe	1410	314		
7	Pe	980	1450		
8	Pe	1375	2390		
9	Pe	1390	1362		
10	Pe	1400	581		
11	Pe	1100	187		
12	Pe	1400	81		
13	Pe	1390	33		
14	Pe	1390	37		
15	Pe-Be-(95:5)	1350	68		
16	Pe-Be-(93:7)	1500	131		
17	Pe-Be-(90:10)	1540	270		
18	Pe-Be-(90:10)	1255	195		
19	Pe-Be-(90:10)	1350	143	amorph	vereinigt mit ML von 20-29
20	Pe-Be-(90:10)	1350	87	krist.	Fr. NN VI/20-29. Aus An-Ae 194 mg 11-De- hydro-corticosteron. ML aus An 6 mg krist. Subst. 1018. Verbliebene ML (1600 mg) mit Reagens T getrennt. Dann Keto- fraktion sowie ketonfreie Anteile nochmals an klei- nen Säulen verteilt
21	Pe-Be-(85:15)	1340	184	krist.	
22	Pe-Be-(80:20)	1330	235	krist.	
23	Pe-Be-(80:20)	1320	160	krist.	
24	Pe-Be-(80:20)	1320	138	krist.	
25	Pe-Be-(80:20)	1320	166	krist.	
26	Pe-Be-(80:20)	1280	220	krist.	
27	Pe-Be-(80:20)	1400	190	krist.	
28	Pe-Be-(80:20)	1320	157	krist.	
29	Pe-Be-(80:20)	1320	149	krist.	
30	Pe-Be-(80:20)	1400	145	krist.	
31	Pe-Be-(80:20)	1360	109	krist.	
32	Pe-Be-(78:22)	1315	103	krist.	
33	Pe-Be-(77:23)	1315	119	krist.	
34	Pe-Be-(75:25)	1310	146	krist.	
35	Pe-Be-(75:25)	1310	146	krist.	
36	Pe-Be-(75:25)	1300	138	krist.	
37	Pe-Be-(70:30)	1290	223	krist.	
38	Pe-Be-(70:30)	1295	209	krist.	
39	Pe-Be-(70:30)	1305	179	krist.	
40	Pe-Be-(70:30)	1540	189	krist.	
41	Pe-Be-(70:30)	1305	129	krist.	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand	
	Art	Menge in ml	Menge in mg	PCh	Habitus und präparatives Resultat
42	Pe-Be-(70:30)	1300	129		krist. } Fr. NN VI/30-51 aus An- Ae 312 mg krist. Cortico- steron rein (Smp. 179- 182°) sowie 195 mg krist. Cortico-steron roh (Smp. 169-177°, Rest bis 210°). Aus ML noch 155 mg krist. Präp. Nr. 1017 (Gemisch) vom Smp. 149-151°, kleiner Rest bei 210°. Verbliebene ML (2,15 g) noch nicht getrennt
43	Pe-Be-(70:30)	1295	129		
44	Pe-Be-(70:30)	1295	113		
45	Pe-Be-(70:30)	1290	111		
46	Pe-Be-(70:30)	1290	104		
47	Pe-Be-(68:32)	1280	85		
48	Pe-Be-(68:32)	1280	69		
49	Pe-Be-(68:32)	1280	71		
50	Pe-Be-(68:32)	1290	70		
51	Pe-Be-(68:32)	1120	93		
52	Pe-Be-(68:32)	1285	54		krist. } Fr. NN VI/52-57 aus An- Ae, dann aus An 16 mg Subst. R, Smp. 199-203°. ML gab wenig Krist., Smp. 190-250° (vermutlich kein Steroid). ML (0,4 g) n. u.
53	Pe-Be-(65:35)	1240	67		
54	Pe-Be-(65:35)	1265	61		
55	Pe-Be-(60:40)	1250	91		
56	Pe-Be-(60:40)	1245	80		
57	Pe-Be-(55:45)	1230	71		
58	Pe-Be-(55:45)	1230	62	amorph	
59	Pe-Be-(55:45)	1230	48	amorph	
60	Pe-Be-(55:45)	2465	79	amorph	
61	Pe-Be-(52:48)	1210	46	amorph	
62	Pe-Be-(52:48)	1210	48	amorph	
63	Pe-Be-(50:50)	1210	65	amorph	
64	Pe-Be-(45:53)	1200	82	amorph	
65	Pe-Be-(45:53)	1200	64	amorph	
66	Pe-Be-(45:53)	1200	103	amorph	
67	Pe-Be-(45:53)	1305	106	amorph	
68	Pe-Be-(45:53)	1310	96	amorph	
69	Pe-Be-(45:53)	1190	83	krist.	
70	Pe-Be-(43:57)	1180	102	krist.	
71	Pe-Be-(42:58)	1180	103	krist.	
72	Pe-Be-(40:60)	1180	104	krist.	
73	Pe-Be-(40:60)	1175	105	krist.	
74	Pe-Be-(38:62)	1165	109	krist.	
75	Pe-Be-(37:63)	1165	103	krist.	
76	Pe-Be-(37:63)	1160	66	krist.	
77	Pe-Be-(37:63)	1165	91	krist.	
78	Pe-Be-(37:63)	1160	81	+	
79	Pe-Be-(37:63)	1165	86	+	
80	Pe-Be-(37:63)	1160	67	+	
81	Pe-Be-(35:65)	1160	76	+	
82	Pe-Be-(35:65)	1155	86	+	



Tabelle 2 (Fortsetzung)

Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand		
	Art	Menge in ml	Menge in mg	PCh	Habitus und präparatives Resultat	
83	Pe-Be-(35:65)	1155	85		} Fr. NN VI/83-88 sowie ML der Fr. 89-93 (nach Rei- nigung total 735 mg). Zur zweiten Vertei- lung vgl. Tab. 7	
84	Pe-Be-(33:67)	1150	80	+		amorph
85	Pe-Be-(33:67)	915	72	+		amorph
86	Pe-Be-(33:67)	1145	78	+		amorph
87	Pe-Be-(33:67)	1150	71			amorph
88	Pe-Be-(33:67)	1145	72	+		amorph
89	Pe-Be-(33:67)	1145	68			wenig krist. M
90	Pe-Be-(32:68)	1135	75	+		wenig krist. M
91	Pe-Be-(32:68)	1140	81	+		wenig krist. M
92	Pe-Be-(30:70)	1140	92	+		wenig krist. M
93	Pe-Be-(30:70)	1135	83		wenig krist. M	
94	Pe-Be-(27:73)	1135	90		krist. } Fr. NN VI/94-97 (+ Krist.	
95	Pe-Be-(25:75)	1120	95		krist. } aus Fr. 89-93), total	
96	Pe-Be-(25:75)	1120	95		krist. } 147 mg 17-Hydroxy-	
97	Pe-Be-(25:75)	1125	85		krist. } corticosteron. ML n. u.	
98	Pe-Be-(25:75)	1560	197		krist. }	
99	Pe-Be-(25:75)	1120	100		krist. }	
100	Pe-Be-(25:75)	1130	87		krist. } Fr. NN VI/98-105 aus	
101	Pe-Be-(20:80)	1115	84		krist. } An. 118 mg Krist. Smp.	
102	Pe-Be-(20:80)	1110	55		krist. } ca. 220-240°. Vorwiegend	
103	Pe-Be-(20:80)	1110	52		krist. } 17-Hydroxycorticosteron	
104	Pe-Be-(20:80)	1110	51		krist. } mit Spur Subst. C oder D	
105	Pe-Be-(20:80)	1100	58		krist. }	
106	Pe-Be-(20:80)	1100	53		krist. } Fr. NN VI/106-109 aus	
107	Pe-Be-(4:96)	1060	89		krist. } An 60 mg krist. Gemisch,	
108	Be	1045	104		krist. } Smp. ca. 220-255° = Ge-	
109	Be	1210	109		krist. } misch von C + D + 3.	
					krist. } Subst. (Rf in Pgl/To zw.	
					krist. } Cortison und 17-Hydroxy-	
					krist. } corticosteron, UV-, RV-,	
					krist. } NaOH-, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> gelblich-	
					krist. } bläulich) + 4. Subst. (hö-	
					krist. } her polar, UV-, RV-,	
					krist. } NaOH violett, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> lila)	
110	Be	1220	121		krist. }	
111	Be	1220	134		krist. }	
112	Be	1220	152		krist. }	
113	Be	1215	163		krist. } Fr. 110-119 aus An.	
114	Be	1220	132		krist. } 200 mg krist. Gemisch,	
115	Be	1220	112		krist. } Smp. 220-240° = Gemisch	
116	Be	1215	71		krist. } von C oder D, U, sowie	
117	Be	1250	70		krist. } 4. Subst. von Fr. 106-109	
118	Be-Chf-(96:4)	1180	60		krist. } ML n. u.	
119	Be-Chf-(90:10)	1145	70		krist. }	

Tabelle 2 (Schluss)

Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand	
	Art	Menge in ml	Menge in mg	PCh	Habitus und präparatives Resultat
120	Be-Chf-(88:12)	1120	58		krist. } Fr. 120–124 aus Me+ wenig Ae 11 mg Drusen, Smp. 290–320°, Gemisch von Coder D und 4. Subst. von Fr. 106–109. ML n. u.  krist. } krist. } amorph } Fr. 125–128 vereinigt, n. u. amorph } amorph } krist. } Fr. 129–132 aus An-Ae krist. } 9 mg «Subst. A», Blätt- krist. } chen, Doppel-Smp. 140– krist. } 160°/215°. ML n. u. amorph } Fr. 133–136 vereinigt. amorph } Aus Fr. 135 wenig wenig krist. } krist. Drusen, Smp. wenig krist. } 275–285° Zers., n. u.
121	Be-Chf-(87:3)	1110	60		
122	Be-Chf-(87:3)	1110	40		
123	Be-Chf-(80:20)	4320	95		
124	Be-Chf-(76:24)	4730	130		
125	Be-Chf-(62:38)	1360	101		
126	Be-Chf-(51:49)	1280	97		
127	Be-Chf-(45:55)	1240	65		
128	Be-Chf-(37:63)	1185	59		
129	Be-Chf-(35:65)	3280	131		
130	Be-Chf-(15:85)	1190	61		
131	Be-Chf-(3:97)	2340	115		
132	Chf	2310	86		
133	Chf	5025	86		
134	Chf	3800	68		
135	Chf	4600	49		
136	Chf	4600	27		

Tabelle 3. Resultat der Papierchromatographie der in Tab. 2 angekreuzten Fraktionen oder ihrer ML

Fraktionsnummer	Resultat
NN VI/78 ML	1, 2, 3, 4
NN VI/79 ML	1, 2, 3, 4, 7
NN VI/80	1, 2, 3, 4, (5), 7
NN VI/82	1, 2, 3, 4, 5, 7
NN VI/84	(1), 2, 3, 4, 5, (6), 7, 9
NN VI/86	(1), 2, 3, 4, 5, 6, 7, (8), 9
NN VI/88	(1), 2, 3, (5), 6 viel, 8
NN VI/90	2, 3, 6 viel, 8
NN VI/91	2, 3, 6 (weniger), 8
NN VI/92	2, 3, (6), 8

*Trennung der ketonfreien Anteile.* Die 1,14 g ketonfreien Anteile wurden an 35 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Für jede Fraktion dienten 100 ml Lösungsmittel.

Die Fr. 1–6 (eluiert mit Pe sowie Pe-Be bis zu 20% Be-Gehalt) gaben nur 24 mg amorphes Material.

Die Fr. 7–10 (90 mg, eluiert mit Pe-Be-(1:1) und reinem Be) gaben aus Me 23 mg Cholesterin, Smp. 146–148°, Misch-Smp. ebenso.

Die Fr. 11–16 (166 mg, eluiert mit Be-Ae von 1–4% Ae-Gehalt) waren amorph.

Die Fr. 17–21 (130 mg, eluiert mit Be-Ae von 4–60% Ae-Gehalt) waren ebenfalls amorph.

Die Fr. 22–29 (25 mg, eluiert mit reinem Ae) gaben aus An 11 mg «Subst. J», Smp. 205–214°, Mischprobe, PCh.

Tabelle 4. *Charakterisierung der nicht identifizierten Stoffe der Fr. NN VI/78-92. In Tab. 3 bezeichnet als 2, 4, 7 und 9*

Bezeichnung	R <sub>S</sub> -Wert S = 17-Hydroxy- corticosteron		UV.	RV.	NaOH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
	Pgl/To	Bush C				
2	1,67		—	+ grün	—	—
4	0,33	1,14	—	—	—	rötlich-violett
7	2,22		—	+	blau	blauviolett
9	3,40		—	—	—	bläulich

Die Fr. 30 (13 mg, eluiert mit Ae-Zusatz von 1-4% «Gemisch») gaben aus Ae-Pe 2 mg «Subst. O», Smp. 181-221°, Mischpr., PCh.

Die Fr. 33-36 (104 mg, eluiert mit Ae unter Zusatz von 8-60% «Gemisch») gaben aus Ae-Pe 29 mg Glycerin-monopalmitat, Smp. 66-67°, Mischprobe, PCh.

Die Fr. 37-40 (44 mg, eluiert mit reinem «Gemisch») waren amorph.

*Trennung der Ketone.* Die Ketone wurden mit analogen Gemischen aus anderen Extrakten vereinigt. Hierzu diente das folgende Material: Ketone aus NN I/7-24 und NN II/1-9 325 mg; Ketone aus NN III/1-25, NN IV/1-10 und NN V/1-12 727 mg; Ketone aus NN VI/1-18 448 mg.

Das Ganze (1,5 g) wurde an 45 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zur Elution jeder Fraktion dienten je 150 ml Lösungsmittel.

Fr. 1 (eluiert mit Pe-Be) gab keinen wägbaren Rückstand.

Fr. 2 (eluiert mit Pe-Be-(4:6)) gab aus Me eine Spur Nadeln, Smp. 251-256°, leicht löslich in Ae, n. u.

Fr. 3 (eluiert mit Pe-Be-(4:6)) gab nur wenig amorphen Rückstand.

Fr. 4-7 (27 mg, eluiert mit reinem Be) gab aus An-Ae 7 mg Androsten-(4)-dion-(3,17), Smp. 169-171°, Misch-Smp. ebenso. Die ML enthielt nach PCh (Ber. 41) 7 Stoffe, n. u.

Fr. 8 (eluiert mit reinem Be) gab aus An-Ae eine Spur Prismen, Smp. 215-220°. Mischpr. mit Adrenosteron gab Depression.

Fr. 9-16 (105 mg, eluiert mit reinem Be sowie Be-Ae-(99:1)) gab aus Me 77 mg Adrenosteron, Smp. 216-220°, Misch-Smp. ebenso. Die ML enthielt nach PCh (Ber. 41) 6 Stoffe (dieselben wie ML von Fr. 4-7).

Fr. 17-19 (64 mg, eluiert mit Be-Ae-(99:1)) gaben aus An-Ae ca. 1 mg Subst. Nr. 932 in Nadeln, Smp. 205-213°. Rf-Werte in Fmd/Cyclohexan-Be (ca. 0,25) und Pgl/To (0,32) praktisch gleich wie die des 3 $\beta$ -Hydroxy-androstan-dions-(11,17), das aber tiefer schmilzt als das entsprechende 3 $\alpha$ -Derivat. UV+, RV-, NaOH-, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> schwach gelb, SbCl<sub>5</sub> orange-rötlich, alkal. m-Dinitrobenzol rotviolett. Die ML enthielt nach PCh (Ber. 41) 5 Stoffe, davon 3 gleich wie Fr. 4-16.

Fr. 20-25 (20 mg, eluiert mit Be-Ae-(99:1)-(92:8)) gaben aus Ae 13 mg 3 $\beta$ -Hydroxy-androstan-dion-(11,17), Smp. 164-166°. Authentisches Material zeigte Smp. 168-170°, Misch-Smp. 165-169°. Die ML enthielt nach PCh (Ber. 41) 4-5 Stoffe.

Fr. 26 (25 mg, eluiert mit Be-Ae-(85:15)) gab aus An-Ae ca. 1 mg Kristalle Smp. 154-164°, aus ML noch wenig Kristalle mit Doppel-Smp. 104/160° (n. u.).

Fr. 27-28 (43 mg, eluiert mit Be-Ae-(70:30)-(40:60)) gab aus wenig abs. Alk 12 mg krist. «Subst. L», davon 2 mg reinst vom Smp. 250  $\rightarrow$  275°, Mischpr. ebenso. Der ML enthielt nach PCh (Ber. 41) 4-5 Stoffe (n. u.).

Fr. 29-31 (eluiert mit reinem Ae) gaben aus Me ca. 1 mg Blättchen, Smp. 289-291°, 1,4 mg vom Smp. 255-284°. ML von Fr. 30 aus feuchtem Ae 1 mg Nadeln, Smp. 210-230°.

Fr. 32 (eluiert mit Ae + 1% «Gemisch») gab aus An-Ae Spur Kristalle, Smp. 244–248°

Fr. 33 (eluiert mit Ae + 1% «Gemisch») gab aus Spur An mit Ae Spur Blättchen, Smp. 220–222° (n. u.).

Fr. 34 (12 mg, eluiert mit Ae + 2% «Gemisch») gab aus Be-An, dann aus An wenig Nadeln, mit Doppel-Smp. 190° → Körner 207° → 214–217° (n. u.).

Fr. 35 (eluiert mit Ae + 3% «Gemisch») gab aus An ca. 1 mg kleine Drüsen, Smp. 228–232°. Die Mischprobe mit 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Dihydroxy-androstanon-(17) (Smp. 234–235°) gab eine deutliche Depression (n. u.).

Fr. 36–37 (35 mg, eluiert mit Ae unter Zusatz von 4–8% «Gemisch») wurden bei 0,01 Torr und 170–190° Badtemperatur destilliert. Das Destillat gab aus Me-Ae 2,2 mg Blättchen, Smp. 254–258° (n. u.).

Die Fr. 38–44 (eluiert mit Ae-«Gemisch» und reinem «Gemisch») gaben nur wenig amorphes Eluat.

**Trennung der Fraktionen NN VI/19–29.** Die Fr. 20–29 gaben aus An-Ae rohes 11-Dehydrocorticosteron. Die vereinigten Rohkristalle lieferten aus An-Ae 194 mg 11-Dehydro-corticosteron, davon 60 mg vom Smp. 181–183° und 130 mg vom Smp. 175–180°. Die Kristall-ML gaben aus wenig An noch 6 mg krist. Subst. 1018, Smp. 221–225°. Nach PCh und Farbreaktionen der «Subst. P» sehr ähnlich, aber damit nicht identisch. Auch die Mischprobe mit P gab deutliche Depression. Möglicherweise handelt es sich um die 3-Epi-Verbindung.

Alle verbliebenen ML (1,505 g) wurden mit der amorphen Fr. 19 vereinigt und das Ganze (1,648 g) mit 3,3 g Reagens T (frisch gereinigt) in 40 ml Me gelöst und 24 Std. bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum bei 30° weitgehend entfernt, der Rückstand mit 20 ml W versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Dieser lieferte nach Waschen usw. 702 mg «ketonfreie» Anteile.

Die wässrige Phase wurde bei 0° mit  $\frac{1}{10}$  Vol. konz. HCl versetzt und ebenfalls mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen Auszüge gaben 794 mg Ketone.

Aus den vereinigten Sodauszügen liessen sich nach Ansäuern 96 mg Säuren ausschütteln. Sie waren nach PCh (Ber. 43) frei von phenolischen Stoffen (n. u.).

**Trennung der Ketonfraktion.** Die 0,794 g Ketone aus NN VI/19–29 wurden mit 0,889 g analogem Material (Ketonfraktion aus NN II/10–17, NN III/26–34 und NN IV/11–17) vereinigt. Es handelt sich überall um die ML von 11-Dehydro-corticosteron. Dieses Material (1,683 g) wurde in wenig abs. An gelöst und mit viel abs. Ae versetzt, wobei etwas braune Flocken ausfielen. Es wurde filtriert. Das klare Filtrat gab beim Eindampfen 1,68 g Rückstand. Es wurde der Verteilungs-Chromatographie auf einer Säule Nr. 1a unterworfen. Durchmesser 35 mm, totale Länge 750 mm. Gefüllt mit 200 g gereinigter Cellulose, die mit 100 ml W getränkt und in reinem Pe suspendiert war.

Zur Chromatographie diente am Anfang die leichte Phase eines Gemisches aus 70 ml Pe, 30 ml Be, 40 ml W und 60 ml Me. Das Substanzgemisch (1,68 g) wurde in 5 ml schwerer Phase gelöst mit 10 g trockener, gereinigter Cellulose vermischt auf die Säule gegeben; der Kolben wurde mit 2,5 ml schwerer Phase und 5 g Cellulose nachgespült. Die leichte Phase des obigen Gemisches diente zum Eluieren der Fr. 1–15. Für die weiteren Fraktionen dienten die in Tab. 5 genannten Gemische, jeweils gesättigt mit demselben Volumen 60-proz. Me. Über das Resultat orientiert Tab. 5.

In den in Tab. 5 angekreuzten Fraktionen konnten papierchromatographisch insgesamt 8 Stoffe nachgewiesen werden, die sich wie folgt auf die genannten Fraktionen verteilten (Ber. 40).

Dabei waren 1 = 11 $\beta$ -Hydroxy-androstendion, 2 = 11-Dehydro-corticosteron, 3 = Corticosteron, 4 = «Subst. S», 5 = vermutl. «Subst. N», 6 = nicht identifizierte Subst. mit Rf in Pgl/To sehr ähnlich wie 2, aber nur UV+ und NaOH gelb, 7 = nicht identifizierte Substanz etwas polarer als 3 in Pgl/To und B<sub>1</sub>, nur UV+ und H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> stark grün, vermutlich kein Steroid.

**Trennung der 505 mg ML von Fr. 7–17 von Tab. 5.** Die 505 mg Material der Fr. 7–17 von Tab. 5 wurden mit 5 ml abs. Py und 3 ml (Ac)<sub>2</sub>O 24 Std. bei 35° stehengelassen. Die Aufarbeitung gab 565 mg neutrales Rohprodukt, das an 16 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Tabelle 5. Verteilungschromatographie von 1,68g Ketonen aus ML von 11-Dehydro-corticosteron  
Die mit + bezeichneten Fr. wurden jeweils einzeln im Papierchromatogramm geprüft

Fraktions-Nr.	Dauer ca. Std.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand	
		Art <sup>47)</sup>	Menge in ml	Menge roh in mg		
1	16	Pe-Be-(7:3)	250	20	Fr. 1 im PCh kein Fleck. Verworfen. Fr. 2-6 aus An 13 mg krist. Adrenosteron. ML zeigte im PCh (Ber. 40) 5 Flecke: Adrenosteron, (11-Dehydrocorticosteron), (Corticosteron) und zwei rasch wandernde Stoffe, aber kein Cortexon, n. u.	
2	5	Pe-Be-(7:3)	75	40		
3	7	Pe-Be-(7:3)	71	35		
4	8	Pe-Be-(7:3)	67	39		
5	8	Pe-Be-(7:3)	73	34		
6	5 <sup>1/2</sup>	Pe-Be-(7:3)	72	42		
7	4 <sup>3/4</sup>	Pe-Be-(7:3)	65	76		
8	4 <sup>1/2</sup>	Pe-Be-(7:3)	67	89		
9	4 <sup>1/4</sup>	Pe-Be-(7:3)	69	87		
10	4	Pe-Be-(7:3)	71	83	Fr. 7-17 aus An-Ae 198 mg reines 11-Dehydro-corticosteron. Der ML diente zur Acetylierung (siehe unten); er zeigte im PCh (Ber. 40) 5 Flecke: 11 $\beta$ -Hydroxy-androstendion, 11-Dehydrocorticosteron, Corticosteron, «Subst. S», fünfte Subst. evtl. N oder Nr. 1014	
11	4	Pe-Be-(7:3)	52	78		
12	4	Pe-Be-(7:3)	53	69		
13	4	Pe-Be-(7:3)	54	54		
14	4	Pe-Be-(7:3)	55	53		
15	4	Pe-Be-(7:3)	58	49		
16	4	Pe-Be-(6:4)	60	44		
17	4	Pe-Be-(6:4)	62	37		
18+	4	Pe-Be-(6:4)	64	39		Fr. 18-19 aus An-Ae, Spur Krist. Smp. 204-210° und 175-228°
19	4	Pe-Be-(6:4)	67	34		
20+	4	Pe-Be-(6:4)	70	33		
21	4	Pe-Be-(6:4)	62	25		
22	4	Pe-Be-(6:4)	67	25		
23	4	Pe-Be-(6:4)	68	22		
24+	4	Pe-Be-(6:4)	71	20		
25	4	Pe-Be-(6:4)	62	18		
26	4	Pe-Be-(6:4)	64	19	Fr. 20-40 aus wenig Me durch mehrmaliges Abdampfen mit An 5,5 mg Subst. Nr. 1014 (schwer kristallisierbar). Farbl. Blättchen, Smp. 250-252°. R <sub>Corticosteron</sub> = 0,37 (Pgl/To). UV-, RV( $\pm$ ), NaOH-, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> schwach rosa, SbCl <sub>3</sub> rotviolett, Zimmermann - (Ber. 41)	
27	4	Pe-Be-(6:4)	69	20		
28+	4	Pe-Be-(6:4)	73	18		
29	4	Pe-Be-(6:4)	79	16		
30	4	Pe-Be-(1:1)	70	14		
31	4	Pe-Be-(1:1)	61	16		
32+	4	Pe-Be-(1:1)	63	14		
33	4	Pe-Be-(1:1)	66	13		
34	4	Pe-Be-(1:1)	68	12		
35	4	Pe-Be-(1:1)	68	15		
36+	4	Pe-Be-(1:1)	63	15		
37	4	Pe-Be-(1:1)	64	12		
38	4	Pe-Be-(1:1)	62	10		
39	4	Pe-Be-(1:1)	83	10		
40+	4	Pe-Be-(3:7)	85	9		

<sup>47)</sup> Jeweils gesättigt mit demselben Volumen 60-proz. Methanol.

Tabelle 5 (Schluss)

Fraktions-Nr.	Dauer ca. Std.	Lösungsmittel		Eindampfrückstand	
		Art <sup>47)</sup>	Menge in ml	Menge roh in mg	Habitus, bei Kristallen Smp. oder Identifizierung. PCh, in Klammern schwache Flecke, n. u.
41	4	Pe-Be-(3:7)	82	10	} Fr. 41–52 gaben nur Spuren Subst. Nr. 1015, Smp. 258–260°, evtl. identisch mit Nr. 1014 (Ber. 41)
42	4	Pe-Be-(3:7)	65	13'	
43	4	Pe-Be-(3:7)	63	8	
44+	4	Pe-Be-(3:7)	69	9	
45	4	Pe-Be-(3:7)	67	6	
46	4	Pe-Be-(2:8)	64	6	
47	4	Pe-Be-(2:8)	63	8	
48+	4	Pe-Be-(2:8)	63	7	
49	7 <sup>1/2</sup>	Pe-Be-(2:8)	121	12	
50	11	Be	200	12	
51	11	Be	202	10	} Fr. 53–60 gaben keine Kristalle
52+	14	Be	260	8	
53	14	Be-Chf-(9:1)	250	10	
54	10	Be-Chf-(9:1)	185	10	
55	8	Be-Chf-(8:2)	158	11	
56+	9	Be-Chf-(8:2)	185	13	
57	6	Be-Chf-(1:1)	113	13	
58	6	Be-Chf-(1:1)	111	15	
59+	6	Chf	112	9	
60	10	Chf	180	4	

Tabelle 6. Verteilung der in den verschiedenen Fr. nachgewiesenen Stoffe

18	(1), 2, 3, 4, 5
20	(1), 2, 3, 4, 5
24	(1), 2, 3, 4, 5
28	(1), 2, 3, 4, 5, 6
32	(1), 2, 3, 4, 5, 6
36	(1), 2, 3, 4, 5, 6
40	(1), 2, 3, 4, 5, 6
44	3, (5?), 7
48	3, (5?), 7
52	} Enthielten nur noch wenig Material, das haupts. am Start stehen blieb. RV–, UV+, NaOH gelb, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> gelblich
56	
59	

Die Fr. 1'–2' (eluiert mit Be-Pe-(3:7)) gaben nur 7 mg amorphes Material, n. u.

Die Fr. 3'–8' (330 mg, eluiert mit Be-Pe-(3:2), reinem Be sowie Be-Ae von 1–5% Ae-Gehalt) gaben aus An-Ae 30 mg reines 21-O-Acetyl-11-dehydro-corticosteron, Smp. 182–184°, und 34 mg vom Smp. 179–182°.

Die Fr. 9'–14' (77 mg, eluiert mit Be-Ae von 8–60% Ae-Gehalt und reinem Ae) gaben aus An-Ae mit Spur Wasser 34,7 mg rohes 11 $\beta$ -Hydroxy-androsten-(4)-dion-(3,17) mit Doppel-Smp. 105–110°  $\rightarrow$  194–199°. Die beste Probe (2,7 mg aus reinem Be) zeigte Smp. 196–199°, Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso.

Die Fr. 15'-18' (20 mg, eluiert mit Ae + 1-4% «Gemisch») gaben aus An-Ae-(1:1) 5 mg O-Acetyl-S, Smp. 235-238° (Mischprobe, Farbreaktionen).

Die Fr. 19'-21' (20 mg, eluiert mit Ae + 6-15% «Gemisch») gaben aus Chf-Ae 1 mg Kristalle, Smp. 307-310°. RV-. Fast unlösl. in Ae, An und Me, leicht lösl. in Chf. Misch-Smp. mit Subst. Nr. 874<sup>6</sup>) 280-290°.

Die Fr. 22'-25' (eluiert mit Ae + 30-60% «Gemisch») und reinem «Gemisch») gaben nur 9 mg amorphes Material, n. u.

**Untersuchung der ketonfreien Anteile aus NN VI/19-29.** Dieser Teil (702 mg) wurde mit 800 mg analogem Material aus NN II/10-17, NN III/26-34 und NN IV/11-17 vereinigt und das Ganze (1,5 g) ebenfalls durch Verteilung an einer Cellulosesäule in 78 Fraktionen zerlegt. Bisher wurden nur Stichproben in Papierchromatogrammen geprüft, wobei sich 15 Komponenten nachweisen liessen (Ber. 41).

**Fr. NN VI/30-51** gaben aus An-Ae 312 mg reines Corticosteron, Smp. 179-182°, sowie 195 mg Kristalle, Smp. 169-177° (Rest bis 210°). Der ML lieferte noch 155 mg krist. Präparat Nr. 1017, Smp. 149-151° (Rest bis 210°). Dieser erwies sich als Gemisch von 4 Stoffen, nämlich Corticosteron, «Subst. N», «Subst. 1018» und «Subst. R».

**Fr. NN VI/52-57** gaben aus An-Ae 16 mg «Subst. R», Smp. 199-203°. Der ML lieferte noch wenig Kristalle, Smp. 190-250° (vermutl. kein Steroid).

**Die Fr. NN VI/58-67** wurden noch nicht untersucht.

**Die Fr. NN VI/69-79** gaben aus An 135 mg krist. Cortison (roh). Die ML wurden vereinigt mit Fr. 68 und 80-82, aber n. u.

**Trennung der Aldosteron-haltigen Fr. NN VI/83-93.** Die Fraktionen NN VI/89-93 gaben aus An eine kleine Menge krist. 17-Hydroxycorticosteron (vereinigt mit Hauptmenge aus Fr. NN VI/94-97). Die ML wurden mit den amorphen Fr. NN VI/83-88 vereinigt, in wenig An gelöst und mit viel abs. Ae versetzt, wobei etwas braune Flocken ausfielen. Es wurde filtriert und gut mit Ae gewaschen. Das eingedampfte Filtrat (735 mg) diente zur zweiten Verteilung an Cellulose-Säule, genau wie früher<sup>2</sup>) beschrieben in einem modifizierten Bush-System: Be-Pe-Me-W-(1:1:1:1). Die schwere Phase diente wieder zur Bereitung der Säule und die leichte zum Eluieren der Fraktionen 1-9. Für Fr. 10-20 wurde das Verhältnis Be-Pe auf (6:4), für Fr. 21-40 auf (7:3) und für Fr. 41-59 auf (8:2) erhöht. Für Fr. 60-72 diente reines Be, das mit  $\frac{1}{2}$  Volumen 50-proz. Me gesättigt war, als Eluiermittel. Über das Resultat orientiert Tab. 7.

Subst. Nr. 1062, Smp. 259-263° zeigte im PCh (Ber. 43)  $R_{\text{Corticosteron}} = 0,90$  ( $BL_1$ )<sup>4</sup>) und 0,46 (Pgl/Tol), also schwächer polar als «Subst. T», UV +, RV -, NaOH gelb,  $SbCl_3$  -, Dinitrophenylhydrazin + (orange).

Die Subst. Nr. 1063 und 1064 konnten auch in Mengen von 0,05 mg auf Papier weder mit UV, Blautetrazolium,  $SbCl_3$  noch Dinitrophenylhydrazin nachgewiesen werden (Ber. 43).

ML der Fr. NN VI/83-93/1-19 n. u.

Die Fr. NN VI/83-93/22-38 gaben aus feuchtem An-Ae nach längerem Stehen bei 0° insgesamt 51 mg krist. Aldosteronhydrat, davon 25 mg in reinster Form, die zwischen 100 und 130° opak wurden und bei 164-168° schmolzen. Der Rest (26 mg) zeigte Doppel-Smp. 110°/165°. Die nicht mehr kristallisierenden ML wurden mit den amorphen Fr. 20-21 und 39-40 vereinigt. Dieses Material (210 mg) diente zur Trennung mit Reagens T (siehe unten). Es enthielt nach PCh (Ber. 22) die folgenden 4 Stoffe: 1) «11-Dehydro-C» (ca. 2%), 2) Cortison (ca. 5%), 3) Subst. Y, 4) Subst. mit Rf wie 17-Hydroxycorticosteron (in Bush C) und etwas grösser als 17-Hydroxycorticosteron in Pgl/To. UV +,  $H_3PO_4$  grün, Farbreaktionen sonst negativ. Aldosteron war nicht sicher nachweisbar, 17-Hydroxycorticosteron war nicht vorhanden. Dieses Material diente zur Trennung mit GIRARD-Reagens T.

Die amorphen Fr. NN VI/83-93/41-44 wurden vereinigt. Dieses Material (64 mg) diente ebenfalls zur Trennung mit Reagens T (siehe unten). Es enthielt nach PCh (Ber. 22) die folgenden 5 Stoffe: 1) «11-Dehydro-C» (ca. 7,5%), 2) 17-Hydroxycorticosteron (ca. 5%), 3) Subst. Y (relativ viel), 4) Substanz wie oben bei NN VI/83-93/20-40 und 5) Subst. (sehr wenig). mit Rf zwischen 4. Subst. und Cortison (in Pgl/To), UV  $\pm$ , RV  $\pm$ , NaOH gelb, Farbreaktionen sonst negativ. Cortison und Aldosteron waren nicht nachweisbar.

Tabelle 7. Zweite Verteilung von NN VI/83-93

Fraktions-Nr.	Volumen in ml	Zeit in Std.	Eindampfrückstand		
			Gewicht in mg	Habitus bzw. präparatives Resultat	
1	14	5	7	} Fr. NN VI/83-93/1-6 aus Spur An+ Ae ca. 1 mg Krist. Subst. Nr. 1062, Smp. 259-263°	
2	27	5	33		
3	30	5	21		
4	40	5	14		
5	30	5	8		
6	17	7,5	6,5		
7	25	7,5	10		
8	21	5	6	} Fr. NN VI/83-93/7-12 aus An-Be (1:4) 1 mg Subst. Nr. 1063, feine Nadeln, subl. 240-260° ohne zu schmelzen	
9	17	5	9,5		
10	24	5	8		
11	30	5	7		
12	32	5	7,2		
13	27	5	5		
14	32	5	5,5	} Fr. NN VI/83-93/13-19 aus An-Ae (1:4) ca. 0,1 mg Subst. Nr. 1064 Drusen aus feinsten Nadeln, Smp. 265-268°	
15	33	5	6		
16	34	5	6,5		
17	35	5	7		
18	24	5	6,5		
19	25	5	6		
20	29	5	6,5		amorph
21	33	5	7	amorph	
22	35	5	11	krist.	} Fr. NN VI/83-93/20-21 vereinigt mit letzten ML von Fr. NN VI/83-93/22-38
23	36	5	11	krist.	
24	36	5	10	krist.	
25	36	5	9	krist.	
26	36	5	11	krist.	
27	36	5	15	krist.	
28	31	5	11,5	krist.	
29	32	5	12,5	krist.	
30	32	5	11,5	krist.	
31	28	5	10	krist.	
32	36	5	16,5	krist.	
33	32	5	12	krist.	} Fr. NN VI/83-93/22-38 aus An-Ae feucht 51 mg krist. Aldosteronhydrat. Letzte ML zusammen mit Fr. 20-21 und 39-40 zur Trennung mit Reagens T.
34	34	5	13,5	krist.	
35	36	5	14	krist.	
36	35	5	14	krist.	
37	37	5	15	krist.	
38	35	5	13	krist.	
39	33	5	13	amorph	
40	34	5	13	amorph	



Tabelle 7 (Schluss)

Fraktions-Nr.	Volumen in ml	Zeit in Std.	Eindampfrückstand	
			Gewicht in mg	Habitus bzw. präparatives Resultat
41	38	5	15	amorph
42	41	5	16	amorph
43	43	5	17,5	amorph
44	45	5	17,5	amorph
45	45	5	19	krist.
46	47	5	18,5	krist.
47	40	5	17,5	krist.
48	30	5	21	krist.
49	34	5	19,5	krist.
50	35	5	22	krist.
51	40	5	18,5	krist.
52	42	5	17	krist.
53	44	5	17	krist.
54	44	5	16	krist.
55	47	5	14	krist.
56	48	5	11	krist.
57	49	5	8	krist.
58	49	5	9	krist.
59	48	5	7	krist.
60	52	10	8,7	krist.
61	28	5	8,2	krist.
62	36	7,5	11,6	krist.
63	45	7,5	10,0	krist.
64	42	7,5	12,2	krist.
65	55	7,5	21	krist.
66	41	7,5	5,8	krist.
67	43	7,5	3,9	krist.
68	140	30	9,5	krist.
69	165	30	6,5	krist.
70	60	15	1	amorph
71	60	15	1,3	amorph
72	55	15	0,7	amorph

Die Fr. 45–56 gaben aus An 44 mg reines 17-Hydroxycorticosteron, Smp. 214–217°. Der weitgehend kristalline ML (155 mg) enthielt nach PCh (Ber. 22) die folgenden 4 Stoffe: 1) «Dehydro-C» (ca. 5%), 2) 17-Hydroxycorticosteron (ca. 12,5%), 3) Y (wenig), 4) Evtl. Spur «Subst. D». Cortison und Aldosteron waren nicht nachweisbar. Auch dieses Material wurde mit Reagens T getrennt (siehe unten).

Die Fr. 57–65 gaben aus An, dann aus Alk 20 mg krist. «Subst. D», davon 12 mg in reinster Form, Smp. 233–238° (Zers.). Misch-Smp. ebenso, sowie 8 mg vom Smp. 231–236°. ML (75 mg) n. u.

Die Fr. 66–69 gaben aus An-Ae, dann aus An 1 mg Kristalle, Smp. 225–235°. ML (24,7 mg) n. u.

**Trennung der Aldosteron-ML NN VI/83-93/20-40.** Die 208 mg Material wurden mit 400 mg frisch gereinigtem Reagens T bei 40° in 10 ml trockenem Me gelöst und 18 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde das Me im Vakuum weitmöglichst entfernt, der Rückstand mit 12 ml W versetzt, Me-Rest im Vakuum ganz entfernt und der Rückstand 4mal mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die einmal mit 2 ml W und zweimal mit je 2 ml 20-proz. KHCO<sub>3</sub>-Lösung und W gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 119 mg «ketonfreie» Anteile.

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden bei 0° mit  $\frac{1}{10}$  Vol. konz. HCl versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Waschen und Trocknen wie oben gab 56 mg Ketone I. Die saure wässrige Phase wurde nach 1stündigem Stehen nochmals wie oben ausgeschüttelt. Sie gab noch 12 mg Ketone II. Schliesslich wurde noch 45 Std. bei -15° und anschliessend wieder 2 Std. bei 20° stehengelassen und erneut ausgeschüttelt. Es resultierten 4,5 mg «Ketone III». Die KHCO<sub>3</sub>-Auszüge gaben nach Ansäuern und Ausschütteln insgesamt 7,2 mg Säuren (verworfen). Verlust (Differenz) total 9 mg. Die ketonfreien Anteile dienten zur Acetylierung (siehe unten). Die Ketone enthielten nach Papierchromatogramm (Ber. 36) Y, Cortison, Aldosteron, Spur 17-Hydroxycorticosteron sowie kleine Mengen stark polarer Substanzen (mit SbCl<sub>3</sub> sowie FeCl<sub>3</sub>-K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> nachweisbar), aber weder Z, noch A 22.

**Trennung der amorphen Fraktionen NN VI/83-93/41-44.** Die 64 mg amorphes Material wurden mit 150 mg Reagens T wie oben (ohne Eisessig) getrennt und gaben 35 mg «ketonfreie» Anteile sowie 28 mg Ketone.

Die «ketonfreien» Anteile enthielten nach Papierchromatogramm (Ber. 23) ca. 10% «Dehydro-C», eine Spur 17-Hydroxycorticosteron mit schwächer polaren auf dem Papier nicht sichtbaren Anteilen. Sie dienten zur Acetylierung (siehe unten).

Die Ketone enthielten 17-Hydroxycorticosteron (ca. 10%), Subst. Y (relativ viel), sowie die Substanzen 4 und 5, die im PCh der rohen Fr. NN VI/83-93/41-44 beobachtet wurden. Diese Ketone dienten zur Isolierung von Subst. Y.

**Trennung der amorphen Fraktionen NN VI/83-93/45-56.** Die 155 mg Material wurden wie oben mit 300 mg Reagens T getrennt und gaben 95 mg «ketonfreie» Anteile sowie 51 mg Ketone I und 5 mg Ketone II.

Die ketonfreien Anteile enthalten nach PCh (Ber. 23) ca. 5% «Dehydro-C»; sonst waren keine Flecken sichtbar. Sie dienten zur Acetylierung.

Die Ketone I und II wurden vereinigt (56 mg). Sie gaben aus An 27 mg krist. 17-Hydroxycorticosteron, Smp. 216–219°. Der ML (23 mg) (Nr. 1069) enthielt nach PCh neben viel 17-Hydroxycorticosteron noch 4–6 Stoffe, aber weder Y noch Z.

**Die Fr. NN VI/94-97** gaben aus An 47 mg krist. 17-Hydroxycorticosteron (inkl. den kleinen Teil aus NN VI/89-93). ML n. u.

**Die Fr. NN VI/98-105** gaben aus An 118 mg Kristallgemisch, Smp. 220–240°. Nach PCh vorwiegend 17-Hydroxycorticosteron mit Spur C oder D.

**Die Fr. NN VI/106-109** gaben aus An 60 mg Kristallgemisch, Smp. 220–255°. Nach PCh Gemisch von C, D und 3. Subst. (Rf zwischen Cortison und 17-Hydroxycorticosteron, UV-, RV-, NaOH violett, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> lila).

**Die Fr. NN VI/110-119** gaben aus An 200 mg krist. Gemisch, Smp. 220–240°, nach PCh C oder D sowie 3. Subst. von Fr. 106–109.

**Die Fr. NN VI/120-124** gaben aus Me + wenig Ae 11 mg Kristalle in Drusen, Smp. 210–238°, nach PCh Gemisch von C oder D und 3. Subst. von Fr. 106–109.

**Die Fr. NN VI/125-136** gaben noch die in Tab. 2 erwähnten Kristalle; n. u.

*Isolierung der Subst. Y.* Die 28 mg Ketone aus Fr. NN VI/83-93/41-44 wurden im Molekularkolben bei 0,03 Torr bis 135° Badtemperatur erwärmt. Bis 110° destillierten 11,2 mg und bis 135° noch weitere 2,4 mg (beide Teile gaben dieselben Kristalle). Der Kolbenrückstand (n. u.) wog dann noch 7,4 mg. Verlust 7 mg.

Die vereinigten Destillate gaben aus Ae Büschel kleiner Nadeln, Smp. 96–97°. Aus An-Ae umkristallisiert, 8 mg gröbere Nadeln, Smp. 97–98°.

Der ML lieferte noch ca. 0,1 mg Nadelchen mit Smp. 206–208° nach Umwandlung in rhomboidale Blättchen bei ca. 195–205°.

Die 35 mg «ketonfreien» Anteile aus Fr. NN VI/83-93/41-44 wurden ebenfalls im Molekularkolben vorsichtig erwärmt. Bis 135° destillierten 8,8 mg; sie gaben aus Ae (Impfen) noch 0,5 mg Subst. Y, Smp. 96-97°. Der Kolbenrückstand (25,5 mg) diente zur Acetylierung, siehe unten. Der Verlust betrug hier nur 0,7 mg.

Aus analogen Konzentraten konnten in gleicher Weise weitere Mengen von Subst. Y gewonnen werden. Bei einem besonders grossen Konzentrat (450 mg Nr. 16-255/4-9, das aus 2000 kg argentinischen gefrorenen Rinder-Nebennieren stammte) wurden auch die nach Behandlung mit Reagens T im Ketonanteil verbliebenen Säuren für sich geprüft. Dieses Konzentrat gab bei der Trennung mit Reagens T 74 mg neutrales «ketonfreies» Material (n. u.), 252,5 mg neutrale Ketone (daraus 211,5 mg Destillat und 152 mg krist. Subst. Y), 61 mg ketonfreie Säuren und 20 mg Säuren (KHCO<sub>3</sub>-Auszug) aus Ketonfraktion. Von diesen 20 mg liessen sich 14 mg im Molekularkolben sublimieren. Das Sublimat gab aus An-Ae 4,9 mg krist. Isovanillinensäure vom Smp. 255°. Es ist unsicher, ob diese Säure bereits in dem verwendeten Konzentrat enthalten war oder ob sie erst bei der Zerlegung des Betainhydrazins von Subst. Y entstanden ist.

Tabelle 8. *Trennung der acetylierten «ketonfreien» Anteile aus Fr. NN VI/83-93/20-56*  
*Isolierung von «3,21-Di-O-acetyl-11-dehydro-C»*

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1	Pe-Be-(92:8)	} Fr. 1-2. 14 mg leicht lösl. in Ae, schwer in Me, verworfen
2	Pe-Be-(85:15)	
3	Pe-Be-(70:30)	} Fr. 3-5 aus Ae-Pentan ca. 1 mg Subst. 1066 in Nadeln, Smp. 174-176°. Im PCh (Ber. 43) nicht identifizierbar, da UV-, RV-, NaOH-, nur H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> schwach grau blau. ML vereinigt mit Fr. 6-7 = 9 mg
4	Pe-Be-(40:60)	
5	Be	
6	Be-Ae-(99:1)	
7	Be-Ae-(98:2)	
8	Be-Ae-(96:4)	} Fr. 8-14 zusammen 37 mg. Fr. 8-12 gaben aus wenig An-Ae 9 mg «Di-O-acetyl-11-dehydro-C», Smp. 214-219°
9	Be-Ae-(92:8)	
10	Be-Ae-(85:15)	
11	Be-Ae-(70:30)	
12	Be-Ae-(40:60)	
13	Ae	} Fr. 15-17 zusammen ca. 1 mg Material. Aus An-Ae Spur Kristalle, Smp. 80°/140°/158°
14	Ae	
15	Ae-Gemisch-(99:1)	
16	Ae-Gemisch-(99:1)	} Fr. 18-21 zusammen 8 mg. Aus An-Ae ca. 1 mg Krist. Gemisch. Drusen, Smp. 253-273° und spitze Plättchen, Smp. 220-222° (= 21-O-Acetyl-17-hydroxy-corticosteron)
17	Ae-Gemisch-(98:2)	
18	Ae-Gemisch-(97:3)	
19	Ae-Gemisch-(96:4)	
20	Ae-Gemisch-(94:6)	
21	Ae-Gemisch-(94:6)	} Fr. 22-25 zusammen 80 mg amorphes Material
22	Ae-Gemisch-(85:15)	
23	Ae-Gemisch-(70:30)	
24	Ae-Gemisch-(60:40)	
25	Gemisch	} Fr. 26-28 zusammen 3 mg braunes amorphes Material
26	Gemisch	
27	Gemisch	
28	Gemisch	

Die Fr. 1-7 und 15-28 wurden nicht untersucht.

**Trennung der «ketonfreien» Anteile der Fr. NN VI/83–93/20–56.** Die «ketonfreien» Anteile der drei Portionen (der Teil aus Fr. NN VI/83–93/41–44 erst nach Abdestillieren der leichter flüchtigen Anteile im Molekularkolben) wurden vereinigt. Dieses Material (240 mg) wurde mit 2,4 ml abs. Py und 1,6 ml (Ac)<sub>2</sub>O 45 Std. bei 20° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:4) gab 197 mg neutrales Rohprodukt und 51 mg Säuren. Letztere (Nr. 1068) gaben mit FeCl<sub>3</sub>-K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> keine Blaufärbung (n.u.).

Die 197 mg neutrales Acetylierungsprodukt wurden an 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 20 ml der in Tab. 8 genannten Lösungsmittel.

### Synthetische Versuche

*3 $\alpha$ ,21-Diacetoxy-17-hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(11,20)* («*Di-O-acetyl-11-dehydro C*») (V). Die aus den Fr. 10–12 (Tab. 8) erhaltenen Rohkristalle gaben aus An-Ae-(1:10) 7 mg farblose rechteckige Plättchen (Präparat Nr. 896), Smp. 214–219°,  $[\alpha]_D^{23} = +93,3^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,743 in Dioxan). Reinstes authentisches Vergleichsmaterial<sup>13</sup>) (Präparat Nr. 648) zeigte Smp. 221–223°. Misch-Smp. 219–222°. Auch die IR.-Spektren waren gleich (vgl. Fig. 4, Theoret. Teil). Die Mischprobe mit *3 $\alpha$ ,21-Diacetoxy-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(11,20)* («C-diacetat») vom Smp. 221–223° schmolz bei 194–204°.

*3-O-Formylandrosteron*. 1 ml 99,5-proz. Ameisensäure und 0,4 ml (Ac)<sub>2</sub>O wurden bei 0° vermischt und unter W-Ausschluss  $\frac{1}{2}$  Std. bei 0° stengelassen. Dann wurde auf –20° abgekühlt und die Lösung von 100 mg trockenem Androsteron vom Smp. 185–186° in 2 ml abs. Py eingetragen. Es wurde 1 Std. bei –20° und 1 Std. bei +10° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 112 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Pe flache, schief abgeschnittene Nadeln, Smp. 181–182°,  $[\alpha]_D^{26} = +94^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,0783 in Chf). Misch-Smp. mit Androsteron 150–160°.

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (318,44) Ber. C 75,43 H 9,49% Gef. C 75,65 H 9,63%

*Verseifung*. 50 mg 3-O-Formylandrosteron in 10 ml Me mit 50 mg KHCO<sub>3</sub> in 3 ml W versetzt und 60 Std. bei 20° stengelassen. Abdampfen des Me im Vakuum gab 42 mg rohe Kristalle. Aus An-Ae reines Androsteron in Blättchen, Smp. 183–185°, Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso.

Eine analoge Probe wurde nur 14 Std. verseift und gab ein Gemisch von Smp. 140–155°.

*21-O-Formyl-17-hydroxy-corticosteron*. 100 mg 17-Hydroxycorticosteron wurden wie oben formyliert. Die Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 112 mg Rohprodukt. Aus Dioxan-An 96 mg unregelmässige Spiesse, Smp. 241–243° (Zers.),  $[\alpha]_D^{26} = +156,6^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,9674 in Dioxan).

C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> (390,46) Ber. C 67,66 H 7,74% Gef. C 67,43 H 7,63%

Der Stoff ist in den meisten organischen Lösungsmitteln, auch in Chf, sehr schwer löslich. Misch-Smp. mit 21-O-Formyl-cortison 219–228°.

*21-O-Formylcortison*. 100 mg Cortison wurden wie oben formyliert und gaben 105 mg Rohprodukt. Aus An sechseckige Plättchen, Smp. 236–238° (Zers.),  $[\alpha]_D^{26} = +212,9^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,7115 in Dioxan).

C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (388,48) Ber. C 68,02 H 7,27% Gef. C 68,01 H 7,28%

Misch-Smp. mit Cortison (vom Smp. 225–232°) 227–234°, also ohne Depression; Misch-Smp. mit 21-O-Acetylcortison (vom Doppel-Smp. 230°/240–241°) 210–225°. Auch dieser Stoff war in Chf sehr schwer löslich.

*Behandlung mit CrO<sub>3</sub> in Eisessig*. 30 mg 21-O-Formyl-cortison vom Smp. 236–238° wurden in 1,5 ml Eisessig mit 0,33 ml 2-proz. CrO<sub>3</sub>-AcOH-Lösung (entspr. 6,6 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 5 Std. bei 18° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 29 mg Rohprodukt, das aus An sofort in feckigen Blättchen kristallisierte, Smp. 234–236°, Misch-Smp. mit Ausgangsmaterial ebenso.

*Verseifung*. 27 mg 21-O-Formyl-cortison vom Smp. 236–238° in 2,4 ml Me mit 30 mg KHCO<sub>3</sub> in 0,6 ml W 40 Std. bei 18° stengelassen. Übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 20 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae-(1:4) rhombische Blättchen, Smp. 221–225°. Nach PCh einheitlich (Cortison). Die Mischprobe mit Cortison schmolz gleich.

Bei einem Versuch, 21-O-Formylcortison an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  zu chromatographieren, wurde etwas freies Cortison erhalten sowie Gemisch, aber nur sehr wenig unverändertes 21-O-Formylcortison. Ausserdem blieb ein Teil Material auf der Säule festhaften.

*21-O-Formylcortison aus 21-O-Formyl-17-hydroxycorticosteron.* 37 mg 21-O-Formyl-17-hydroxy-corticosteron in 2 ml AcOH mit 0,33 ml 2-proz.  $\text{CrO}_3$ -AcOH-Lösung versetzt. Diese war nach 6 Min. verbraucht, worauf noch 0,15 ml derselben Lösung zugegeben wurden. Es wurde noch 1 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch  $\text{CrO}_3$  nachweisbar war. Die übliche Aufarbeitung gab 38 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 22 mg 21-O-Formylcortison, Smp. 236–238° (Zers.). Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso, mit 21-O-Formyl-17-hydroxy-corticosteron 216–227°.

*3 $\alpha$ ,21-Diformoxy-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20)* («3,21-Di-O-formyl-C») (III). 32 mg rohe «Subst. C» (I) (aus NN I) vom Smp. 260–264° in 1 ml abs. Py mit 0,5 ml Ameisensäure und 0,2 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  wie oben formyliert. Die Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 38 mg Rohprodukt, Smp. 210–216°. Aus An-W Smp. 212 → 218°. Aus An-Be nach Einengen 17 mg dünne Nadeln, Smp. 212 → 219°. Aus Chf-Be hexagonale Plättchen, Smp. 218–222° (Nr. 892),  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +27,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,048$  in An). 13 mg lösten sich nicht völlig in 1 ml Chf.

*3 $\alpha$ ,21-Diformoxy-17-hydroxy-5 $\alpha$ -pregnandion-(11,20)* («3,21-Di-O-formyl-11-dehydro-C») (VI). 17 mg 3 $\alpha$ ,21-Diformoxy-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20) (Nr. 892) vom Smp. 212 → 219° in 1,7 ml AcOH (darin schwer löslich) mit 0,15 ml 2-proz.  $\text{CrO}_3$ -AcOH-Lösung versetzt (entspr. 3 mg  $\text{CrO}_3$ ) und 45 Min. bei 20° stehengelassen, worauf noch  $\text{CrO}_3$  nachweisbar war. Dann wurde mit viel Ae versetzt, mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , W, Sodalösung und W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (15 mg) gab aus An-Ae Kristalle, Smp. 232–234°. Aus Chf-Be-(1:1) 10,9 mg Präp. Nr. 893 in hexagonalen Blättchen, Smp. 234–236°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +71,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9344$  in An).

9 mg unreiner ML vom Smp. 208–216° aus Präp. Nr. 892 wurden analog oxydiert. Das Rohprodukt (10 mg) gab aus An-Ae, dann aus Chf-Be 3,6 mg Spiesse, Smp. 226–230°. Misch-Smp. mit Nr. 893 224–235°.

*3 $\alpha$ ,17,21-Trihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-dion-(11,20)* («11-Dehydro-C») (IV). 10,9 mg Präp. Nr. 893 (VI) in 2 ml Me gelöst (darin schwer löslich) mit 11 mg  $\text{KHCO}_3$  in 0,4 ml W versetzt in Ampulle eingeschmolzen bei 20° stehengelassen. Nach 24 Std. hatten sich wenig Kristalle gebildet. Es wurde kurz auf 45° erwärmt, wobei diese in Lösung gingen und nicht wieder ausfielen. Es wurde insgesamt 94 Std. stehengelassen. Ausschütteln mit Chf-Ae, Waschen mit W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen gab 10 mg Rohprodukt. Aus An-Ae Smp. 199–211°. Aus Me-Ae 1,7 mg Präp. Nr. 894 in dünnen Nadeln, Smp. 211–222°. Nach PCh (Ber. 23) lag ein Gemisch von ca. 6% «11-Dehydro-C» (IV) mit ca. 90% Mono-O-formyl-Derivat vor. Die ML (8,3 mg) diente zur Verteilungschromatographie.

Die ML von Präp. Nr. 893 und alle Kristalle aus Oxydation von 892 ML wurden vereinigt und das Ganze (13,6 mg) in 2 ml Me mit 15 mg  $\text{KHCO}_3$  in 0,5 ml W in Ampulle leicht evakuiert eingeschmolzen und ebenfalls 98 Std. bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 10,7 mg Rohprodukt.

Die 8,3 mg ML von Nr. 894 sowie die 10,7 mg rohes Verseifungsprodukt aus Versuch 2 wurden vereinigt (19 mg) und einer Verteilungschromatographie unterworfen.

Verwendet wurde eine Säule von 10 mm Durchmesser, die mit 6 g Kieselgur-W-(1:1), aufgeschlemmt in Pe-Be-(1:1) gefüllt wurde (Füllhöhe 10 cm). Das Material (19 mg) wurde mit 1 g Kieselgur-W vermischt aufgetragen. Durchlaufgeschwindigkeit 7–9 ml pro Std. Über das Resultat orientiert Tab. 9.

Fr. 7 gab im PCh (Ber. 25) 4 Flecke, darunter einen, der dem «3-Mono-O-formyl-11-dehydro-C» entsprach. Letzteres zeigt die folgenden Laufstrecken und Farben:

$\text{R}_{\text{Cortison}}$

BUSH C	Fmd/Chf	RV	UV	NaOH	$\text{H}_3\text{PO}_4$
1,56	1,45	+	–	–	hellblau

Tabelle 9. *Trennung von 29 mg rohem «11-Dehydro-C»*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eluierdauer in Std.	Eindampfrückstand			
			Menge in mg	PCh	Präparat	
1	Pe-Be-(1:1)	1	5	Gemisch	Fr. 1-7 aus An-Ae, dann An 2 mg Nadeln, Smp. 207-210°, 3-Mono-O-formyl-dehydro-C	
2	Pe-Be-(1:1)	1	3			
3	Pe-Be-(1:1)	1	1			
4	Pe-Be-(1:1)	1	0,3			
5	Pe-Be-(1:1)	1	1,4			
6	Pe-Be-(1:1)	1	0,1			
7	Pe-Be-(1:1)	1	0,1			
8	Be	1	2,0		vereinigt mit 1-7 ML	
9	Be	1	1,5		«11-Dehydro-C»	Fr. 9-12 aus Me-W und An-W 0,2 mg reinstes Präp. 897, Smp. 212-214°
10	Be	1	1,1			
11	Be	1	1,1			
12	Be	1	1,5		«11-Dehydro-C»	Fr. 13-17 vereinigt mit ML 9-12 aus An-Be 1,2 mg fast reines «11-Dehydro-C», Smp. 201-208°
13	Be	1	1,5		«11-Dehydro-C»	
14	Be	1	1,2		+ anderes	
15	Be	1	0,5			
16	Be	1	0,2			
17	Be	2	0,2		«11-Dehydro-C» + anderes	
18	Be	2	0,3		gab wenig krist. C, Smp. 252-264°	
19	Be	4	0,2			
20	Be	20	0,1			

Fr. 9 gab nur einen Fleck («11-Dehydro-C»).

Die Fr. 13 und 17 gaben neben dem starken Fleck von «11-Dehydro-C» noch einen schwachen, höher polaren, der einer reduzierenden Substanz (evtl. C) entsprach.

Die vereinigten Fraktionen 1-7 gaben aus An-Ae, dann aus wenig reinem An 2 mg krist. 3-Mono-O-formyl-Derivat in Nadeln, Smp. 207-210°, das aber nach PCh (Ber. 43) noch Spuren von 3 anderen Stoffen enthielt.

Die Fraktionen 9-12 gaben aus An-Ae, dann aus Me-W durch Einengen im Vakuum, sowie aus An-W 0,2 mg rhomboedrische Blättchen, Smp. 212-214°, die nach PCh (Ber. 26) reine Subst. «11-Dehydro-C» (IV) darstellte. Die ML wurden mit den Fr. 13-17 vereinigt und gaben aus An-Be noch 1,2 mg etwas weniger reine Kristalle, Smp. 201-208°, die aber nach PCh auch noch einheitlich waren.

Fr. 18 gab aus An-Ae eine kleine Menge schwer löslicher Kristalle, Smp. 252-264°, wahrscheinlich «Subst. C».

*Subst. Y.* Sublimiert bei 0,03 Torr und 100-110° Badtemp. Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 96-97°,  $[\alpha]_D^{27} = +1,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,94$  in Chf). Trocknung 48 Std. über  $P_2O_5$  ohne Vakuum.

$C_{12}H_{14}O_5$  (238,23) Ber. C 60,45 H 5,92 O 33,58 -OCH<sub>3</sub> 13,02 C-CH<sub>3</sub> 6,31%  
Gef. „ 60,11; 60,64 „ 5,93; 6,22 „ 33,58 „ 12,99 „ 6,55%

Tetranitromethan gab deutliche Gelbfärbung. Weitere Reaktionen vgl. Tab. 1. UV- und IR. Spektrum vgl. Fig. 1 und Fig. 7 und 7a.

*Abbau von Subst. Y mit NaJO<sub>4</sub>.* 20 mg Subst. Y (Smp. 97-98°) wurden in 2 ml Me gelöst, mit 40 mg NaJO<sub>4</sub> in 4 ml W<sup>(6)</sup> 3 Std. bei 20° stengelassen, wobei die Mischung sich gelbbraun (J<sub>2</sub>) färbte. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt, die Lösung mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bis zur

kongosauren Reaktion versetzt und 3mal mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die 3mal mit je 0,5 ml W gewaschenen Auszüge wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Eindampfen im Vakuum gab 13 mg Rückstand (noch J-haltig). Verarbeitung der sauren wässrigen Phase siehe unten.

Die 13 mg Rohprodukt gaben nach mehrmaligem Sublimieren bei 0,01 Torr und 110–140° Badtemp.<sup>48)</sup> aus An-Ae 4,7 mg reine Isovanillinsäure (XVIII) in farblosen, rhomboidrisch begrenzten Blättchen, Smp. 250–255° (rasch erhitzt)<sup>49)</sup>. UV.-Spektrum siehe Fig. 2. Die potentiometrische Titration von 1,656 mg Subst. in 0,2 ml Alk-Me-(1:1) vermischt mit 6 ml W ergab das Äquiv.-Gew. 152,6 und ein  $\text{pK} = 4,7$ . Ber. für  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$  168,14. Charakterisierung des regenerierten Materials siehe unten.

Die saure wässrige Phase wurde mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  genau neutralisiert und bei 75 Torr vorsichtig destilliert. Das reine Destillat (ca. 2 ml) wurde mit 5 mg Dimedon und 1 Tropfen AcOH versetzt und 1 Std. auf 100° erhitzt, wobei sich farblose Nadeln abschieden. Es wurde abgekühlt, 1 Std. bei 0° stehengelassen, abgenutscht und mit W gewaschen. Das Rohprodukt (1,5 mg, Smp. 186–189°) gab aus Ae durch Einengen und Zusatz von Pentan farblose Nadeln, Smp. 190–191°. Authentische Formaldehyd-Dimedon-Verbindung und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die IR.-Spektren in  $\text{CS}_2$  (Fig. 6) waren gleich.

*O-Acetyl-isovanillinsäure (XV) aus Subst. Y.* 3 mg Isovanillinsäure (XVIII, regeneriert von UV.-Spektrum und Titration) wurden mit 0,15 ml abs. Py und 0,1 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  20 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 0,1 ml W versetzt und erneut 2 Std. stehengelassen. Nach Zusatz von verd. HCl wurde mit Ae ausgeschüttelt. Die mit verd. HCl, Sodalösung und W gewaschene Lösung hinterliess beim Eindampfen nur 0,2 mg neutralen Rückstand (verworfen). Die Sodauszüge wurden sofort mit HCl angesäuert und erneut mit Ae ausgeschüttelt. Sie gaben 3,3 mg rohe Säure, aus An-Ae 2,1 mg flache Nadeln, schmolzen teilweise bei 190° unter Umwandlung in rechteckige Blättchen, definitiver Smp. 214–217° (unter teilw. Sublimation). Misch-Smp. mit authentischer O-Acetyl-isovanillinsäure (Smp. 221–222°) 216–221° (nach vorheriger Umwandlung).

*Methylester XVI.* 3,3 mg der obigen Säure aus Subst. Y wurden mit ätherischer  $\text{CH}_2\text{N}_2$ -Lösung 10 Min. bei 20° stehengelassen. Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen gab 3,3 mg neutrales Rohprodukt. Aus Ae-Pe-(1:2) 1,4 mg farblose Blättchen (längliche Sechsecke), Smp. 84–85°. Authentischer Ester XVI und die Mischprobe schmolzen gleich. Letztere erstarrte bereits bei 83° wieder und schmolz bei erneutem Erhitzen wieder bei 84–85°.

*Einwirkung von HCl in Me auf Subst. Y.* 6 mg Subst. Y wurden in 1 ml Me gelöst, mit 0,03 ml konz. HCl versetzt, 45 Std. bei 20° stehengelassen und anschliessend 10 Min. gekocht. Dann wurde mit 30 ml Ae verdünnt und 3mal mit je 1 ml W gewaschen. Die über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Ae-Lösung gab beim Eindampfen 5,7 mg braungrünen Rückstand. Dieser wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr bis 130° (Badtemp.) erhitzt, wobei 2,2 mg Destillat erhalten wurden. Aus wenig Ae feine flache Nadeln, Smp. ca. 250° (subl. ab ca. 225°).

Der braune Kolbenrückstand wurde in Chf-Ae gelöst und einmal mit 1 ml 20-proz.  $\text{KHCO}_3$ -Lösung (blieb farblos) und zweimal mit 2-n. Sodalösung und W gewaschen (Auszüge braun). Die über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Chf-Ae-Lösung gab beim Eindampfen 2,6 mg dunkelbraunen neutralen Rückstand (amorph).

*O-Acetyl-anhydro-Y.* 35 mg Subst. Y (Smp. 97–98°) wurden in 0,5 ml abs. Py und 0,32 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  24 Std. bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 46 mg neutrales Rohprodukt als braungelben Sirup, der schwer kristallisierte. Es wurde an 1,5 g Silicagel chromatographiert.

Die Fr. 1–3 (eluiert mit abs. Be) gaben nur Spuren Rückstand (verworfen).

Die Fr. 4–11 (19 mg krist. Material, eluiert mit Be-Ae von 1–30% Ae-Gehalt) wurden im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 100–110° Badtemp. destilliert. Das Destillat (18 mg)

<sup>48)</sup> Es wäre vermutlich besser gewesen, das Rohprodukt zuerst mit etwas Zn in AcOH zu reduzieren.

<sup>49)</sup> Bei nicht sehr raschem Erhitzen sublimiert auf dem Block alles ab, bevor der Smp. erreicht ist.

gab aus An-Ae-(1:10) 15 mg O-Acetyl-anhydro-Y (Präp. 971) vom Smp. 98–100°. Im Kolben verblieben 0,5 mg krist. Rückstand, die auch bis 160° nicht sublimierten. Umkristallisieren aus An-Ae lieferte ca. 0,3 mg Präparat Nr. 992 vom Smp. 234–235°.

Die Fr. 12–13 (3,2 mg, eluiert mit Be-Ae-(40:60) und reinem Äther) gaben noch eine Spur Kristalle, Smp. 228–232°. Der ML wurde destilliert (siehe unten).

Die Fr. 14–18 (4,5 mg, eluiert mit Ae + 2–70% «Gemisch») gaben aus An-Ae-(1:5) ebenfalls noch eine Spur Kristalle vom Smp. 230–234°.

Die ML der Fr. 12–18 wurden vereinigt (7,2 mg) und bei 0,01 Torr im Molekularkolben destilliert. Bei 90–120° Badtemp. destillierten 2,7 mg (amorph, n. u.) und bei 120–180° noch 1,7 mg (amorph, n. u.). Der verbliebene Kolbenrückstand (ca. 3 mg) wurde verworfen.

Die Fr. 19–22 (eluiert mit reinem «Gemisch») gaben nur noch 1,5 mg amorphes Material, schwer lösl. in An, verworfen.

Die aus dem Destillat von Fr. 4–11 erhaltenen Kristalle (Präp. 971) gaben aus An-Ae hellgelbe Nadeln, Smp. 98–99°. Zur Analyse 12 Std. bei 12 Torr und 20° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. UV- und IR-Spektrum vgl. Fig. 1 und Fig. 8 und 8a.

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub> (262,25) Ber. C 64,11 H 5,38% Gef. C 64,29 H 5,69%

*Y-methyläther* (Nr. 968). 5 mg Subst. Y (Smp. 96–97°) wurden mit ätherischer Diazomethanlösung 1 Std. bei 20° stehengelassen, wobei die Kristalle nach ca. 20 Min. gelöst waren. Es wurde mit mehr Ae verdünnt, mit verd. HCl, wenig 10-proz. KHCO<sub>3</sub>-Lösung und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (Präp. Nr. 968) enthielt nach PCh noch etwas freie Subst. Y, sonst nur einen rascher wandernden Fleck mit sehr ähnlichen Eigenschaften wie *Z-methyläther* (= Methyläther von XIII, vgl. spätere Mitteilung), wie aus Tab. 10 ersichtlich.

Tabelle 10. Vergleich der Eigenschaften von *Y-methyläther* und *Z-methyläther*  
Abkürzungen wie bei Tab. 1

Substanz	R <sub>S</sub> -Werte (S = Corticosteron)			UV	RV	NaOH im UV	SbCl <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> sicht- bar	FeCl <sub>3</sub> + K <sub>3</sub> (FeCN) <sub>6</sub>
	BL <sub>1</sub> <sup>4</sup>	C	Pgl/To						
<i>Y-methyläther</i>	1,35		2,67	+	+	–	blau- grün	schwach grau	–
<i>Z-methyläther</i>	1,34	0,95	2,55	+	+	hell- blau	blau	–	–
Subst. Y zum Vergleich		0,03		+	+	blau- grün	blau- grün	blau- violett	+

*Abbau von Y-methyläther* (Nr. 968) mit NaJO<sub>4</sub>. 4,5 mg des obigen, nicht ganz einheitlichen Präparats Nr. 968 wurden in 0,45 ml Me gelöst, mit 0,9 ml 1-proz. wässriger NaJO<sub>4</sub>-Lösung versetzt und 2 Std. bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung wie beim Abbau von Y gab 0,8 mg amorphes, neutrales Rohprodukt (verworfen) und (aus Soda-Auszügen) 4,3 mg rohe Säure. Diese gab aus An-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 176–180° (nach Umwandlung in rhomboedrisch begrenzte Plättchen). Misch-Smp. mit Veratrum-säure (Smp. 179–181°) ohne Erniedrigung. Zur Charakterisierung wurde die rohe Säure (Kristalle und ML) mit ätherischer Diazomethanlösung 10 Min. bei 20° stehengelassen, mit mehr Ae verdünnt, mit HCl, NaOH und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der hellbraune Rückstand (4 mg) wurde bei 0,01 Torr und 70–80° destilliert. Das Destillat (ca. 2 mg) gab aus wenig Pentan bei 0° (nach Impfen) ca. 1 mg farblose Nadeln, Smp. 53–55°. Die Mischprobe mit authentischem Material gab auch nach Schmelzen und Wiedererstarren keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel ausgeführt.



*Zusammenfassung*

Die Isolierung von  $3\alpha,17,21$ -Trihydroxy- $5\alpha$ -pregnandion-(11,20) in Form seines Di-O-acetyl-Derivates sowie von «Subst. Y» aus Rinder-Nebennieren-Extrakten wird beschrieben, ferner eine Teilsynthese des obigen Diketons aus «Subst. C» über das Di-O-formyl-Derivat. «Subst. Y» besitzt vermutlich die Formel  $C_{12}H_{14}O_5$ , sie enthält den Iovanilloyl-Rest und ausserdem eine zweite Ketogruppe, vermutlich als primäres Ketol. Einige orientierende Versuche zur Trennung der schwach polaren Anteile des Nebennieren-Extraktes werden beschrieben. Sie lieferten neben bekannten Stoffen eine grössere Anzahl von Kristallisaten in kleinen Mengen, die noch nicht identifiziert oder aufgeklärt werden konnten. Von den bekannten Stoffen ist, soviel wir feststellen konnten,  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ -androstandion-(11,17) erstmals aus Nebennieren-Extrakten isoliert worden.

Forschungslaboratorien der Pharmazeutischen Abteilung  
der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, und  
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

## 170. Etude analytique de la diaminoglyoxime II: Complexes avec le nickel

par P.-E. Wenger, D. Monnier et I. Kapétanidis

(14 VII 58)

### Complexes nickel-diaminoglyoxime en milieu acide

Nous avons déjà vu<sup>1)</sup> que la diaminoglyoxime (DAG), en tant que  $\alpha$ -diamine, est capable de former, en milieu légèrement acide, deux complexes solubles avec le nickel et que L. TSCHUGAEFF fut le premier à les isoler et à en décrire les propriétés<sup>2)</sup>.

Par la suite, DUBSKÝ et son école<sup>3)</sup> reprirent l'étude des réactions du nickel avec la diaminoglyoxime; mais ces auteurs ne décrivent qu'un seul complexe formé en milieu acide, à savoir  $[Ni(C_2H_6N_4O_2)_2]X_2$ .

Nous avons cru utile d'entreprendre une étude critique de ces travaux, ce qui nous a d'ailleurs permis d'établir de façon sûre le nombre des complexes existant en milieu acide et, aussi, d'en déterminer les constantes. Notre étude est basée sur des méthodes colorimétriques et spectrophotométriques.

A partir du pH 3,78, le chélate Ni-DAG commence à se former et précipite. Aussi avons nous dû effectuer nos mesures à des pH inférieurs, allant de 3 à 3,5.

<sup>1)</sup> Helv. **40**, 1456 (1957).

<sup>2)</sup> Ber. deutsch. chem. Ges. **40**, 181 (1907).

<sup>3)</sup> J. V. DUBSKÝ & OKAČ, Coll. Trav. chim. Tchéc. **4**, 388 (1932); J. V. DUBSKÝ, M. KURAŠ & J. TRTÍLEK, *ibid.* **7**, 1 (1935); E. RUŽIČKA & M. KURAŠ, Chem. Listy **46**, 91 (1952); M. KURAŠ, Mikrochem. **32**, 192 (1944); Coll. Trav. chim. Tchéc. **12**, 198 (1947).