

SUMMARY

The authors investigate the reaction products formed, when $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ is deprotonated in perchlorate solutions. When a small amount of base is added, metastable solutions containing the ions $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}^{2+}$, $\text{Fe}_2(\text{H}_2\text{O})_8(\text{OH})^{4+}$ and $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})^+$ are formed, and α -FeOOH slowly crystallises out. In a narrow intermediate range immediately after adding the base, colloidal amorphous $\text{Fe}(\text{OH})_3$ and crystalline α -FeOOH are formed. If more base is added a dark brown solution of colloidal amorphous $\text{Fe}(\text{OH})_3$ results, in which the crystallisation of α -FeOOH, under certain conditions also of γ -FeOOH, begins after an induction period of several days. Only when a nearly equivalent amount of base is added, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ is precipitated. On ageing, this changes partly into α - Fe_2O_3 , partly into α -FeOOH, a rather large amount remaining amorphous. In all the systems, no stable state is reached at room temperature, even after years. If a small amount of Fe^{2+} ions is coprecipitated, a complete crystallisation of the amorphous hydroxide to α -FeOOH takes place. The mechanism of the formation of the crystalline phases is discussed.

Universität Bern,
Institut für anorganische, analytische und
physikalische Chemie
und Laboratorium für Elektronenmikroskopie

27. $3\alpha, 17\alpha, 21$ -Trihydroxy- 5α -pregnan-20-on und Subst. TR 1018

Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe, 101. Mitteilung¹⁾

von J. v. EUW, R. NEHER und T. REICHSTEIN

(6. XII. 61)

Aus Extrakten von Rinder-Nebennieren wurde kürzlich u.a. ein krist. Stoff (Subst. TR 1018) isoliert²⁾, der sehr ähnliche Eigenschaften wie $3\beta, 17\alpha, 21$ -Trihydroxy- 5α -pregnan-20-on (XI) («Subst. P»)³⁾ besitzt, von diesem aber verschieden war. Er war auch verschieden von dem isomeren $3\alpha, 17\alpha, 21$ -Trihydroxy- 5β -pregnan-20-on («THS»)⁴⁾. Wir vermuteten, es könnte das zu Subst. P in 3-Stellung epimere $3\alpha, 17\alpha, 21$ -Trihydroxy- 5α -pregnan-20-on (X) («3-*epi*-P») vorliegen. Für eine Analyse oder einen Abbau war die Menge von Subst. 1018 unzureichend, daher haben wir die Synthese von X zum Vergleich durchgeführt.

¹⁾ 100. Mitteilung: J. v. EUW, R. NEHER, T. REICHSTEIN, S. A. S. TAIT, J. F. TAIT & A. WETTSTEIN, *Helv.* **42**, 1817 (1959).

²⁾ J. v. EUW, C. MEYSTRE, R. NEHER, T. REICHSTEIN & A. WETTSTEIN, *Helv.* **41**, 1516 (1958), bes. S. 1535.

³⁾ T. REICHSTEIN & K. GÄTZI, *Helv.* **21**, 1185 (1938).

⁴⁾ a) Biologische Synthese *in vitro*: F. UNGAR & R. I. DORFMAN, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 1197 (1954). b) Chemische Synthese: J. P. ROSSELET, L. OVERLAND, J. W. JAILER & S. LIEBERMAN, *Helv.* **37**, 1933 (1954). c) Aus Harn isoliert: J. C. TOUCHSTONE, H. BULASCHENKO, E. M. RICHARDSON & F. C. DOHAN, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **17**, 250 (1957); D. K. FUKUSHIMA, T. F. GALLAGHER, W. GREENBERG & O. H. PEARSON, *ibid.* **20**, 1234 (1960).

Als Ausgangsmaterial diente das nach FUKUSHIMA *et al.*⁵⁾ bereitete 3 α -Acetoxy-17 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-on (VII). Die Gewinnung konnte etwas verbessert werden durch Umsetzung des Tosylats II mit K-Acetat in Dimethylformamid⁶⁾. Durch Zusatz von etwas Eisessig und Acetanhydrid liess sich die Bildung von Olefin weiter eindämmen. Bei den folgenden Umsetzungen haben wir Proben der Zwischenprodukte V und VI in analysenreiner Form isoliert.

Die weitere Umformung von VII durch Bromierung und Umsetzung mit K-Acetat und KJ erfolgte nach bekannten Vorbildern⁷⁾. Das krist. Di-O-acetyl-Derivat IX konnte mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol zum freien Triolon X verseift werden. Reacetylierung gab das Di-O-acetyl-Derivat IX zurück; dies zeigt, dass bei der Verseifung keine Umlagerung eingetreten ist. Dafür sprechen auch die IR.-Spektren (vgl. Fig. 1 und 2).

Der direkte Vergleich zeigte, dass auch das 3 α -Derivat X («3-*epi*-P») von Subst. 1018 verschieden war. Die Tab. 1 und 2 geben die papierchromatographische Charakterisierung¹²⁾ und Tab. 3 die zugehörigen Farbreaktionen.

Tabelle 1. *Relative Laufstrecken bezogen auf Hydrocortison = 1*

	Pgl/To ¹³⁾	Fmd/Chf ¹⁴⁾	B ₆ ¹⁵⁾	C ¹⁵⁾	E ₂ B ¹⁶⁾	Fmd/BW ¹⁷⁾
Cortison	2,51	2,39	1,91	1,38	1,32	
«Subst. P» (XI) ³⁾	2,34	2,50	2,87	1,63	2,51	1,64
«3- <i>epi</i> -P» (X) ¹¹⁾	3,98	2,78	2,87	1,70	2,56	
Subst. 1018 ²⁾	2,55	2,45	2,88	1,74		1,69
THS ¹⁸⁾	2,80	2,79	2,81	1,81	2,71	1,76
R ¹⁹⁾	1,00	2,63	2,64	1,67	1,61	1,26
TH-Corticosteron ²⁰⁾	5,43	2,60	3,24	2,01	1,62	1,45

5) D. K. FUKUSHIMA, A. D. KEMP, R. SCHNEIDER, M. B. STOKEM & T. F. GALLAGHER, *J. biol. Chemistry* 270, 129 (1954).

6) P. ZIEGLER & K. R. BHARUCHA, *Chemistry and Ind.* 1955, 1351.

7) G. ROSENKRANZ, J. PATAKI, St. KAUFMANN, J. BERLIN & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 4081 (1950).

12) Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil; für die Systeme, bei Originalliteratur.

13) Propylenglykol/Toluol, nach A. ZAFFARONI, R. B. BURTON & E. H. KEUTMANN, *Science* 111, 6 (1950), sowie R. B. BURTON, A. ZAFFARONI & E. H. KEUTMANN, *J. biol. Chemistry* 188, 763 (1951).

14) Formamid/Chloroform, dieselben¹³⁾.

15) I. E. BUSH, *Biochem. J.* 50, 370 (1952); B₆ = Benzol-Methanol-Wasser-(2:1:1); C = Toluol-Äthylacetat-Methanol-Wasser-(9:1:5:5).

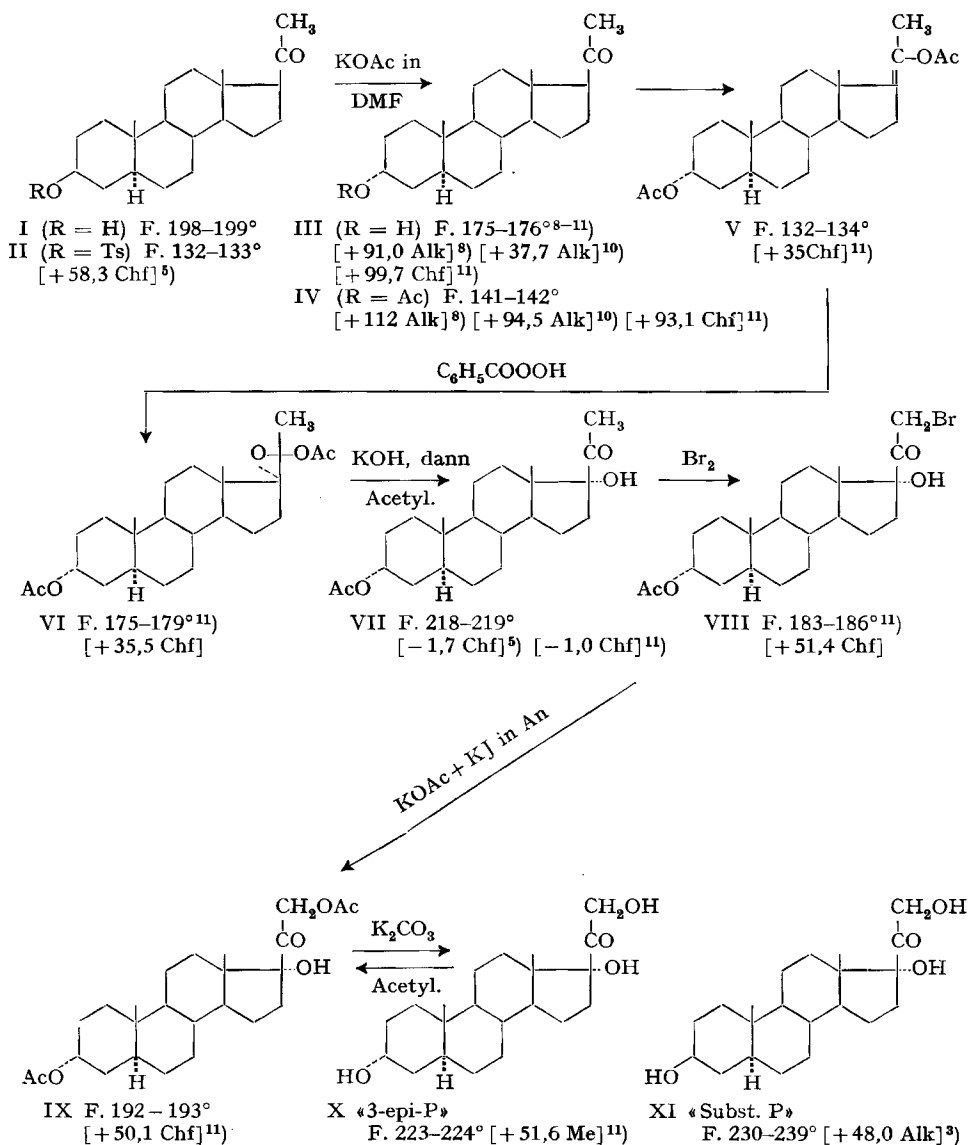
16) W. R. EBERLEIN & A. M. BONGIOVANNI, *Arch. Biochem. Biophysics* 59, 90 (1955); Isooctan-*t*-Butanol-Wasser-(50:25:45).

17) Formamid/Butylacetat-Wasser, V. R. MATTOX & M. L. LEWBART, *Arch. Biochem. Biophysics* 76, 362 (1958).

18) THS = 3 α , 17 α , 21-Trihydroxy-5 β -pregnan-20-on⁴⁾.

19) R = «Subst. R» = 3 β , 11 β , 21-Trihydroxy-5 α -pregnanon-(20), T. REICHSTEIN & J. v. EUW, *Helv.* 27, 1197 (1938); T. REICHSTEIN, *Helv.* 27, 1490 (1938).

20) TH-Corticosteron = 3 α , 11 β , 21-Trihydroxy-5 β -pregnanon-(20), J. C. TOUCHSTONE, H. BULASCHENKO, E. M. RICHARDSON & F. C. DOHAN, *Arch. Biochem. Biophysics* 52, 284 (1954); W. R. EBERLEIN & A. M. BONGIOVANNI, *J. clin. Invest.* 34, 1337 (1955); L. L. ENGEL, P. CARTER & L. L. FILDING, *J. Biol. Chemistry* 213, 99 (1955).



Ac = CH₃CO, Ts = *p*-CH₃-C₆H₄SO₂-, DMF = Dimethylformamid. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Alk = Äthanol, Chf = Chloroform, Me = Methanol. Weitere Abkürzungen vgl. Einleitung zu Exper. Teil.

⁸⁾ R. E. MARKER, O. KAMM & R. V. MCGREW, *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 616 (1937).

⁹⁾ R. E. MARKER, O. KAMM, D. M. JONES, E. L. WITTLE, T. S. OAKWOOD & H. M. CROOKS, *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 768 (1937); R. E. MARKER, O. KAMM, D. A. MCGINTY, D. M. JONES, E. L. WITTLE, T. S. OAKWOOD & H. M. CROOKS, *ibid.* **59**, 1367 (1937); R. E. MARKER, O. KAMM & D. M. JONES, *ibid.* **59**, 1595 (1937).

¹⁰⁾ G. FLEISCHER, B. WHITMAN & E. SCHWENK, *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 78 (1938).

¹¹⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

Tabelle 2. *Relative Laufstrecken bezogen auf Corticosteron = 1*

	Pgl/To ¹³⁾	Fmd/Be-Chf-(1:1)	Bl ₁ 38° ²¹⁾
«Subst. P» (XI)	0,14	0,50	0,66
«3- <i>epi</i> -P» (X)	0,24	0,63	0,75
Subst. 1018	0,17	0,51	0,65
THS	0,18	0,53	0,69
R	0,24	0,48	0,41
TH-Corticosteron	0,32	0,63	0,73

Tabelle 3. *Farbreaktionen im Tageslicht (im UV.-Licht). 1–6 im Papierchromatogramm mit je 0,01 mg pro ca. 3 cm². 7 *in vitro*²⁵⁾ mit 0,02 mg. 0 = keine Färbung*

Reagens	«Subst. P» (XI)	«3- <i>epi</i> -P» (X)	THS ¹⁸⁾	Subst. 1018
1. Blautetrazolium ²²⁾ .	blau	blau	blau	blau, aber nur ca. 30% so stark wie P und 3- <i>epi</i> -P
2. NaOH, Fluoreszenz im UV. nach Erhitzen ¹⁵⁾	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3. SbCl ₃ ²³⁾	0 (schwach violett)	0 (schwach violett)	0 (schwach violett)	0 (blau)
4. H ₃ PO ₄ ²³⁾	0 (rötlich-violett)	0 (rötlich-violett)	0 (rötlich-violett)	0 (schwach violett)
5. UV. ²⁴⁾	0	0	0	0
6. J-KJ ¹³⁾	0	0	0	0
7. PORTER-SILBER-Reaktion ²⁵⁾	positiv	positiv	positiv	negativ

Wie ersichtlich, lassen sich P, *epi*-P und THS nur im Pgl/To-System eindeutig voneinander differenzieren. Subst. 1018 lässt sich bestenfalls in demselben System knapp von P unterscheiden. Alle anderen hier geprüften Systeme ergeben keine Differenzierung. Auch die angegebenen Farbreaktionen für die Flecke in Papierchromatogrammen sind für alle vier Stoffe (P, *epi*-P, THS und Subst. 1018) praktisch gleich. Bei quantitativer Prüfung zeigt sich aber, dass Subst. 1018 «Blautetrazolium» nur etwa 1/3 so stark reduziert wie P, *epi*-P und THS. Eindeutig verschieden ist die PORTER-SILBER-Reaktion²⁵⁾, die bei Subst. 1018 praktisch negativ ist. Subst. 1018 dürfte daher vermutlich keine Dihydroxyaceton-Seitenkette enthalten.

²¹⁾ R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* 39, 2062 (1956).

²²⁾ W. J. MADER & R. R. BUCK, *Analyt. Chemistry* 24, 666 (1952).

²³⁾ R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* 34, 2278 (1951).

²⁴⁾ UV.-Photokopie, vgl. S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 1163 (1954).

²⁵⁾ C. C. PORTER & R. H. SILBER, *J. biol. Chemistry* 185, 201 (1950). Ausgeführt mit je 0,02 mg Substanz in 2,8 ml Reagens, 16 Std., 20°. Bei positivem Befund ergab sich ein Maximum bei ca. 408–414 m μ , ϵ = 20500. Kompensation mit Reagens oder verd. H₂SO₄.

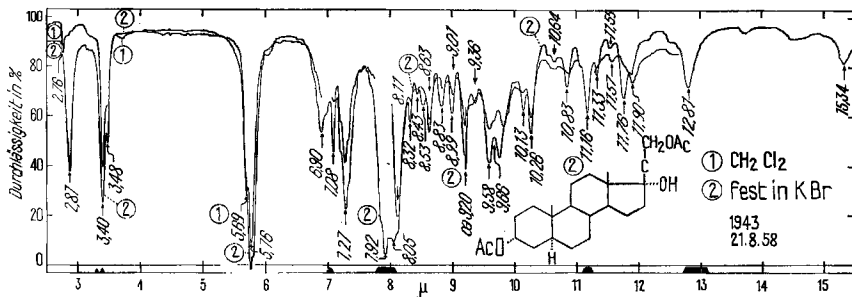


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektren von 3 α ,21-Diacetoxy-17 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-on (IX)²⁶)
 Kurve 1 in CH₂Cl₂ (c = 0,0574 Mol/Liter, d = 0,195 mm). Kurve 2 fest (ca. 1 mg) gepresst in (ca.
 300 mg) KBr²⁷). (In Formel fehlt O an C-20)

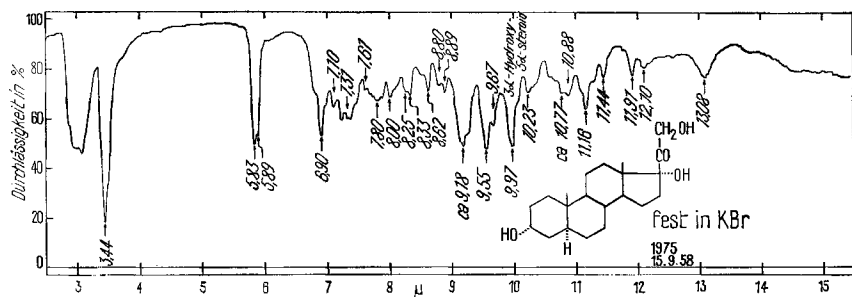


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von 3 α ,17 α ,21-Trihydroxy-5 α -pregnan-20-on (X)²⁶),
 fest (0,94 mg) gepresst in (ca. 300 mg) KBr²⁷).

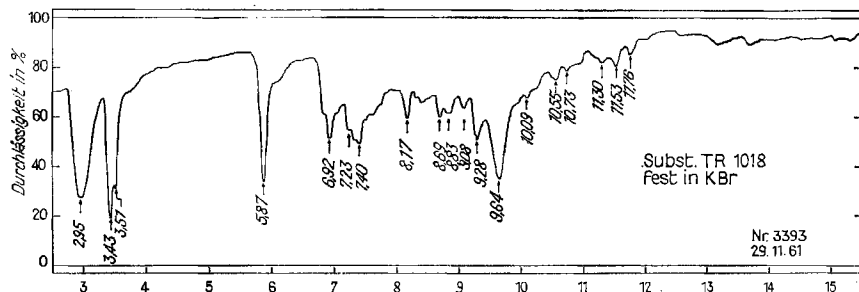


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. 1018²⁸), fest (0,3 mg) gepresst in (ca. 65 mg) KBr.
 Mikrotablette).

Wir danken Herrn Dr. Ek. WEISS für seine Hilfe bei der Korrektur des Manuskripts.

Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. \pm 2°, darüber ca. \pm 3°. Substanzproben zur Analyse wurden, wo nichts anderes erwähnt, 3 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P₂O₅ getrocknet. Übliche Aufarbeitung

²⁶) Aufgenommen von den Herren K. STICH & G. ROTZLER auf einem PERKIN-ELMER-double-beam-Infrared-Spectrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma.

²⁷) Nicht vibriert.

²⁸) Aufgenommen von Herrn R. BÜHRER mit Mikrotechnik in demselben Apparat wie Fig. 1 und 2.

bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von W, Ausschütteln mit Ae (oder anderem Lösungsmittel, falls vermerkt), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und W, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Es wurden die folgenden Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig, $(\text{Ac})_2\text{O}$ = Acetanhydrid, Alk = Äthanol, Be = Benzol, Chf = Chloroform, DMF = Dimethylformamid, Fmd = Formamid, Me = Methanol, ML = eingedampfte Mutterlauge, Pgl = Propylenglykol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

3 β -Tosyloxy-5 α -pregnan-20-on (II). Die folgende Vorschrift hat sich auch in anderen Fällen besonders bewährt: 10,5 g *3 β -Hydroxy-5 α -pregnan-20-on (I)* vom Smp. 196–198° und 11,5 g *frisch gereinigtes p-Toluolsulfochlorid*²⁹⁾ wurden zusammen bei 40° und 0,01 Torr getrocknet. Dann wurde mit 100 ml abs. Py versetzt, durch kurzes Wärmen auf 40–50° gelöst und 20 Std. bei 20° stengelassen. Dann wurde mit 6 g Eis versetzt und nochmals 2 Std. stengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 15,9 g neutrales Rohprodukt. Aus Ae und aus Me 15,14 g farblose Nadeln, Smp. 132–133°; die ML lieferte noch 0,22g Kristalle, Smp. 116–122°.

Tabelle 4. *Chromatographie von 1,1 g rohem Enolacetat V*

Fraktions Nr.	Lösungsmittel je 100 ml	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	C(NO ₂) ₄	Menge in mg	Smp.	
1	Pe	wenig		–	–	–
2–3	Pe-Be-(95:5)	383	++	108	127–132°	Nr. 1076
4–8	Pe-Be-(95:5)	385	++	70 ca.	100–130°	Zur Epoxylierung
9	Pe-Be-(95:5)	24	–	5 ca.	105–130°	
10–12	Pe-Be-(95:5)	45	+	12 ca.	105–130°	
13	Pe-Be-(93:7)	32	–	10 ca.	129–139°	
14	Pe-Be-(90:10)	25	–			
15	Pe-Be-(85:15)	28	–	6 ca.	95–125°	
16	Pe-Be-(80:20)	21	–			
17	Pe-Be-(75:25)	17	±	3 ca.	115–165°	
18	Pe-Be-(70:30)	14	+	2	115–140°	
19	Pe-Be-(60:40)	8		2	100–125°	
20	Pe-Be-(1:1)	3		1	141–142°	
21–22	Be	36				
23	Be-Ae-(85:15)	2				
24	Be-Ae-(70:30)	1				

3 α -Hydroxy-5 α -pregnan-20-on (III). 27 g K-Acetat wurden in 10 ml W heiss gelöst, mit 100 ml DMF, das auf 60° erwärmt war, und dann mit 10 ml AcOH versetzt. In die warme Lösung (ca. 65°)³⁰⁾ wurden 13,7 g *3 β -Tosyloxy-5 α -pregnan-20-on (II)* eingetragen, mit 35 ml DMF nachgespült, mit 10 ml $(\text{Ac})_2\text{O}$ versetzt und sofort 4½ Std. auf 110–115° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung mit Ae gab 10 g neutrales Rohprodukt. Dieses wurde zur Verseifung in 190 ml Me heiss gelöst, mit 10 ml konz. HCl versetzt und 22 Std. bei 20° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 9,4 g Rohprodukt. Aus Ae 5,87 g Kristalle, Smp. 167–172°. Eine

²⁹⁾ a) Technisches Material wird in Ae gelöst, mit Sodalösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird aus abs. Be umkristallisiert. – b) Es wird in abs. Be gelöst, durch eine Säule mit ca. 4facher Menge Al_2O_3 filtriert, Filtrat nach Einengen mit Pe versetzt; reine Kristalle sofort im Exsiccator trocknen.

³⁰⁾ Die Lösung ist übersättigt und soll nicht erkalten, da sonst K-Acetat auskristallisiert.

Probe wurde chromatographisch gereinigt und aus Ae umkristallisiert: farblose wollige Nadeln, Smp. 175–176°, $[\alpha]_D^{24} = +99,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$ in Chf). Es zeigte im IR. (Nr. 1643 in CS_2) eine starke Bande bei $9,97 \mu^{31}$.

Die ML (3,63 g) wurden mit 4,27 g analogem Material aus einem zweiten Versuch vereinigt und das Ganze (7,9 g) an 250 g Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich die 6 folgenden Präparate isolieren liessen:

Die Fr. 2–5 (3,878 g, eluiert mit Pe-Be von 11–14% Be-Gehalt) gaben aus Ac, dann aus Me, 2,77 g Präp. 1073 in farblosen Prismen, Smp. 126–127°, vermutlich Δ^2 -5 α -Pregnen-20-on⁵)³²). Tetranitromethan gab starke Gelbfärbung.

Die Fr. 6–7 (0,076 g, eluiert mit Pe-Be von 15–16% Be-Gehalt) gaben aus Ae-Pe und Me 32 mg Präp. 1074 in farblosen Nadeln, Smp. 150–151°. Tetranitromethan gab starke Gelbfärbung.

Die Fr. 8–18 (1,785 g, eluiert mit Pe-Be von 17–60% Be-Gehalt sowie mit reinem Be) gaben aus Ac-Pe 1,36 g 3 α -Acetoxy-5 α -pregnan-20-on (IV): 2 Formen (siehe unten), beide vom Smp. 142–143°.

Die Fr. 19 kristallisierte nicht.

Die Fr. 20–21 (0,844 g, eluiert mit Be-Ae von 10–15% Ae-Gehalt) gaben aus Ae 521 mg reinstes 3 α -Hydroxy-5 α -pregnan-20-on (III) vom Smp. 175–176° sowie noch 267 mg etwas tiefer schmelzende Kristalle.

Die Fr. 22 (297 mg, eluiert mit Be-Ae-(85:15)) gab aus Chf-Ae 97 mg 3 β -Hydroxy-5 α -pregnan-20-on (I) in farblosen Blättchen, Smp. 192–196°.

Die Fr. 23 (77 mg, eluiert mit Be-Ae-(4:1)) gab aus An-Ae 10 mg farblose Blättchen, Smp. 181 bis 182° (Nebenprodukt, nicht untersucht).

Die Fr. 24–26 (40 mg, eluiert mit Be-Ae von 25–30% Ae-Gehalt) gaben aus Ae 21 mg farblose rhombische Blättchen, Smp. 160–161° (Nebenprodukt, nicht untersucht).

3 α -Acetoxy-5 α -pregnan-20-on (IV). 2 g 3 α -Hydroxy-5 α -pregnan-20-on (III) (Rohkristalle) wurden mit 6 ml abs. Py und 4 ml $(Ac)_2O$ 24 Std. bei 22° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 2,165 g Rohprodukt. Aus Ae 1,13 g reine Kristalle, Smp. 141–142°, $[\alpha]_D^{24} = +93,1^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1$ in Chf). Das Präparat lieferte 2 Formen: farblose feine Nadeln (meist bei rascher Kristallisation) oder grobe vierkantige Prismen. Beide schmolzen gleich. Die ML gab noch 0,75 g etwas tiefer schmelzende Kristalle.

3 α ,20-Diacetoxy- $\Delta^{17:20}$ -5 α -pregnen (V). 1,055 g 3 α -Acetoxy-5 α -pregnan-20-on (IV), 19 g $(Ac)_2O$ und 260 mg *p*-Toluolsulfosäure wurden 3½ Std. auf 85° erwärmt. Dann wurde mit 400 mg K-Acetat versetzt und bei 45° im Vakuum fast zur Trockne eingedampft. Nach Zusatz von Eis wurde bei 0° mit Ae ausgeschüttelt. Die mit kalter 20-proz. $KHCO_3$ -Lösung und Eiswasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben 1,19 g neutrales Rohprodukt. Aus wenig Ae-Pe 87 mg hellbraune Blättchen, Smp. 100–130°. Die ML (1,1 g) wurde an 35 g neutralem Al_2O_3 chromatographiert (vgl. Tab. 4).

Auf Grund der Tetranitromethanreaktion war das Enolacetat hauptsächlich in den Fraktionen 2–8 angereichert. Die Kristalle (Nr. 1076) dürften eines der zwei möglichen Raumisomeren darstellen; sie zeigten nach Umkristallisieren Smp. 132–134°, $[\alpha]_D^{24} = +35,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf), und im IR. (Nr. 1757 in CS_2) u. a. Banden bei 7,99 (schwach); 8,07; 8,13; 8,22; 8,41; 8,52 und $8,67 \mu$. Eine schwache Bande bei $11,09 \mu$ könnte von einer kleinen Menge des Δ^{20} -Isomeren mit Vinylgruppe herrühren. Im UV. (Nr. 2423 in Cyclohexan) wurde ein Maximum bei ca. $195 m\mu$, $\log \epsilon = 3,96$, gefunden³³).

3 α ,20-Diacetoxy-17,20-epoxy-5 α -pregnan (VI). – a) Aus Kristallen: 63 mg krist. 3 α ,20-Diacetoxy- $\Delta^{17:20}$ -5 α -pregnen (V) vom Smp. 132–134° (Nr. 1076 aus Fr. 2–3 von Tab. 4) wurden in 0,6 ml Chf mit der Lösung von 25 mg reiner Benzopersäure in 0,25 ml Chf versetzt und 20 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit Ae verdünnt, mit Sodalösung und mit Na_2SO_3 -Lösung gewaschen, über Na-Sulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (72 mg) gab aus Ae das Epoxyd VI in farblosen Blättchen, Smp. 163–170°.

³¹) Typisch für 3 α -Hydroxy-5 α -sterioide, vgl. R. N. JONES & G. ROBERTS, J. Amer. chem. Soc. 80, 6121 (1958), und frühere Lit. daselbst.

³²) S. LIEBERMAN, K. DOBRINER, B. R. HILL, L. F. FIESER & C. P. RHOADS, J. biol. Chemistry 172, 263 (1948).

³³) Messtechnik vgl. K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1480 (1959).

b) *Aus amorphem Enolacetat*: 275 mg ML der Fr. 2–3 von Tab. 4 wurden analog mit 90 mg Benzopersäure umgesetzt und lieferten 278 mg Rohprodukt. Daraus 68 mg Kristalle vom Smp. 153–167°.

107 mg Kristalle (aus beiden Ansätzen) wurden an 3,5 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 2–5 (89 mg, eluiert mit Pe-Be von 15–65% Be-Gehalt sowie mit reinem Be) gaben aus Ae 63 mg krist. Präp. 1084 (VI) in farblosen Nadeln, Smp. 177–180°, $[\alpha]_D^{25} = +35,5 \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf).

Die Fr. 6–13 (14 mg, eluiert mit Be-Ae-Gemischen) gaben aus Aceton 5 mg reines 3 α -Acetoxy-17 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-on (VII).

3 α -Acetoxy-17 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-on (VII). 80 mg rohes Präp. 1084 (VI, Kristalle und ML der Fr. 2–5, siehe oben bei b)) wurden in 1 ml CH_3OH gelöst, mit der Lösung von 70 mg KOH in 0,7 ml W und 1,5 ml CH_3OH versetzt und 45 Min. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Chf ausgeschüttelt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mit Py und $(\text{Ac})_2\text{O}$ 20 Std. bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung lieferte 78 mg Rohprodukt. Aus Aceton 54 mg rechteckige Blättchen, Smp. 218–219°, $[\alpha]_D^{25} = -1,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf). Maxima im UV. (Nr. 2515 in Alkohol) bei ca. 195 μ (Grenze des Messbereichs, wahres Maximum vermutlich noch kürzerwellig³⁴), $\log \epsilon = 3,88$, und 295 μ , $\log \epsilon = 1,77$. Im IR. (Nr. 1881 fest in KBr) zeigte es u. a. Banden bei 5,78 und 5,87 μ .

$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_4$ (376,52) Ber. C 73,36 H 9,64% Gef. C 73,46 H 9,54%

Eine weitere Menge von VII wurde nach FUKUSHIMA *et. al.*⁵) ohne Isolierung der Zwischenprodukte bereitet, das Endprodukt zeigte nach chromatographischer Reinigung dieselben Eigenschaften.

3 α -Acetoxy-17-hydroxy-21-brom-5 α -pregnan-20-on (VIII). 170 mg 3 α -Acetoxy-17-hydroxy-5 α -pregnan-20-on (VII) vom Smp. 218–219° wurden in 15 ml alkoholfreiem Chf³⁴) gelöst und mit 1 Tropfen 30-proz. HBr-Eisessig-Lösung versetzt. Dann wurde innerhalb 45 Min. bei 45–50° unter Rühren die Lösung von 80 mg Br_2 in 10 ml Chf zugetropft. Anschliessend wurde mit Ae verdünnt, in Gegenwart von Eis mit W und KHCO_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt (220 mg) gab aus Ae 94 mg farblose Blättchen, Smp. 180–184°, sowie 68 mg vom Smp. 175–182°. Nach Umkristallisieren Smp. 183–186°, $[\alpha]_D^{25} = +51,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,45$ in Chf).

$\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{Br}$ (455,43) Ber. Br 17,54% Gef. Br. 17,74%

Alkalische Silberdiammin-Lösung sowie Blautetrazolium wurden rasch reduziert.

3 α ,21-Diacetoxy-17-hydroxy-5 α -pregnan-20-on (IX). 124 mg 3 α -Acetoxy-17-hydroxy-21-brom-5 α -pregnan-20-on (VIII) vom Smp. 183–186° wurden in 25 ml Aceton gelöst, mit 0,125 ml AcOH und 170 mg gepulvertem KHCO_3 versetzt und unter Rühren 5 Min. gekocht. Dann wurden 85 mg KJ zugegeben und noch 4½ Std. unter Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 134 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 105 mg Kristalle, Smp. 186–191°. Umkristallisieren gab farblose rechteckige Plättchen, Smp. 192–193°, $[\alpha]_D^{25} = +50,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Chf).

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (434,55) Ber. C 69,09 H 8,81% Gef. C 69,11 H 8,71%

Alkalische Silberdiammin-Lösung und Blautetrazolium wurden rasch reduziert. IR.-Spektrum vgl. Fig. 1. Das UV.-Absorptionsspektrum (Nr. 2566 in Alkohol) zeigte ein kurzwelliges Maximum bei 196 μ , $\log \epsilon = \text{ca. } 3,53$, sowie ein weiteres Maximum bei 290 μ , $\log \epsilon = 1,94$.

3 α ,17,21-Trihydroxy-5 α -pregnan-20-on (X) (*3-epi-P*). 88 mg 3 α ,21-Diacetoxy-17-hydroxy-5 α -pregnan-20-on (IX) vom Smp. 188–192° wurden in 8 ml Me gelöst, mit 100 mg K_2CO_3 in 2 ml W in Ampulle im Vakuum eingeschmolzen und 3½ Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand mit viel Chf-Ae ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 69 mg hellbraunen Rückstand. Zweimalige Kristallisation aus Aceton-Ae gab 8 mg Kristalle, Smp. 208–220°. Kristalle und ML wurden mit 45 mg analogem Material (aus ML von IX bereitet) vereinigt (114 mg) und an 5 g Silicagel chromatographiert.

Die Fr. 9–16 (58 mg, eluiert mit Ae sowie Ae mit Zusatz von 1–20% Chf-Me-Äthylacetat-Gemisch-(1:1:1)) enthielten das richtige Produkt, waren aber nach Papierchromatogramm noch

³⁴) Frisch durch Al_2O_3 filtriert.

nicht völlig einheitlich. Sie wurden nochmals an 4 g Silicagel chromatographiert. Die analog eluierten Fraktionen (35 mg) gaben aus Aceton 19 mg farblose Blättchen, Smp. 218–221°. Nach Umkristallisieren Smp. 223–224°, $[\alpha]_D^{20} = +51,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). IR.-Spektrum siehe Fig. 2. Alkalische Silberdiamminlösung sowie Blautetrazolium wurden rasch reduziert.

Acetylierung. 3 mg 3 α ,17,21-Trihydroxy-5 α -pregnan-20-on wurden mit 120 mg abs. Py und 80 mg (Ac)₂O 20 Std. bei 25° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 3,5 mg Rohprodukt. Aus Ae sechseckige Blättchen, Smp. 189–192°. Die Mischprobe mit reinem IX schmolz bei 190–193°.

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

ZUSAMMENFASSUNG

Die Synthese von 3 α ,17,21-Trihydroxy-5 α -pregnan-20-on wird beschrieben. Der Stoff war nicht identisch mit der aus Nebennieren-Extrakten isolierten Substanz Nr. 1018.

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

28. Digicitrin, ein neues Flavon aus den Blättern des roten Fingerhutes

von W. Meier und A. Fürst

(6. XII. 61)

Aus den phenolischen Anteilen eines Benzolextraktes von Blättern des roten Fingerhutes (*Digitalis purpurea* L.) lässt sich eine Substanz vom Smp. 178–179° isolieren. Obwohl der Gehalt in luftgetrockneten Blättern nur etwa 0,002% beträgt, bietet ihre Gewinnung dank dem starken Haftvermögen an Aluminiumoxid keine besonderen Schwierigkeiten. Zur Bereitstellung der für die Konstitutionsaufklärung benötigten Materialmengen standen uns Mutterlaugen aus der Fabrikation von «Digalen»-ROCHE, einem in der Herztherapie gebrauchten Medikament, zur Verfügung.

Die neue, gelbgefärbte Verbindung C₂₁H₂₂O₁₀, für welche wir den Namen *Digicitrin* vorschlagen, ist optisch inaktiv; sie enthält zwei aktive Wasserstoffatome und sechs Methoxylgruppen. Aus dem leicht zugänglichen Diacetyl-Derivat kann die ursprüngliche Verbindung durch alkalische Hydrolyse regeneriert werden. Die OH-Funktion macht sich auch im IR.-Spektrum (Fig. 1) durch die Bande bei 3400 cm⁻¹ bemerkbar. Verschiedene Farbreaktionen und das UV.-Spektrum (Fig. 2), welches zwei Absorptionsmaxima bei 282 m μ ($\epsilon = 19100$) und 337 m μ ($\epsilon = 17670$) zeigt, deuten auf das Vorliegen eines Flavonkörpers hin¹⁾²⁾³⁾.

1) T. A. GEISSMAN in K. PAECH & M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. III, 450–498; Springer Verlag, Berlin 1955.

2) K. VENKATARAMAN in L. ZECHMEISTER, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* 17, 1–69 (1959).

3) B. SKARZYNSKI, *Biochem. Z.* 307, 150 (1939).