

18-Stellung bereits eine freie Hydroxygruppe aufweist, liess sich nun unter milden Bedingungen, durch Hydrolyse mit verdünnter Essigsäure während 12 min bei 95°, in einer Ausbeute von ca. 85% in 18-Hydroxy-progesteron¹⁵, das in der entsprechenden 20(18)-Cyclohemiketalform VII vorliegt, überführen.

¹⁵ Die erhaltene Verbindung wurde anhand ihres Smp., Mischsmp. mit authentischem Präparat⁶, IR-Spektrums und ihres papierchromatographischen Verhaltens [Systeme: Formamid/Cyclohexan-Benzol (1:1); Formamid/Benzol und Bush A (380°)] identifiziert.

¹⁶ Das Hydrolyseprodukt liess sich durch präparative Papierchromatographie [Systeme: Formamid/Cyclohexan-Benzol (1:1), Rf = 0,70; Bush B₃ (38°) nach Voräquilibrierung, Rf = 0,62] und anschliessende Kristallisation aus wenig Äther rein erhalten. Die Ausbeute an Kristallen vom Smp. 128–130° betrug 30–35% bez. auf VI. Die Verbindung zeigte das erwartete IR-Spektrum⁷ und lieferte richtige Analysenwerte.

Das Hydroxy-diketal VI lieferte ferner nach Oxydation der 18-Hydroxygruppe mit Chrom(VI)-oxid in Pyridin-Wasser bei 60°C¹² während 3½ h die 18-Oxoverbindung VIII, die ihrerseits durch kurzes Erhitzen mit 66prozentiger Essigsäure zu 18-Oxo-progesteron¹⁶ (IX) hydrolysiert werden konnte.

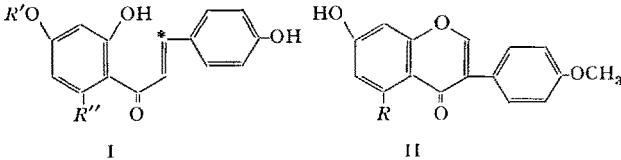
Summary. 18-Hydroxyprogesterone (VII) and the corresponding 18-aldehyde (IX), hitherto only accessible with difficulty from natural 18-substituted steroids, have been synthesized starting from progesterone.

J. KALVODA, J. SCHMIDLIN,
G. ANNER und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel (Schweiz), 14. Juli 1962.

Einbau des 2',4,4',6'-Tetrahydroxy-chalkon-2'-glucosid-[β-¹⁴C] in Isoflavone¹

Wie wir in einer früheren Untersuchung zeigen konnten, wird in der Kichererbse (*Cicer arietinum* L.²) das 4,4',6'-Trihydroxy-chalkon-4'-glucosid-[β-¹⁴C] (I, R' = Glucose, R'' = H) in spezifischer Weise nur in das Isoflavon Formononetin (II, R = H), nicht aber in das Biochanin-A (II, R = OH) eingebaut³.



Wir haben nun den Gegenversuch mit dem 2',4,4',6'-Tetrahydroxy-chalkon-2'-glucosid-[β-¹⁴C]⁴ (I, R' = H, R'' = O-Glucose) durchgeführt. Dieses Chalkonglucosid wurde Cicer-Trieber in wässriger Lösung zugeführt, nach 40 h wurden die Isoflavone in der früher beschriebenen Weise isoliert und nach Verdünnung mit inaktivem Material und Reinigung zu Ameisensäure und dem entsprechenden Keton abgebaut⁵. Die Ergebnisse der Radioaktivitätsmessungen sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, wird das Tetrahydroxy-chalkon in das Biochanin-A eingebaut, wobei sich erwartungsgemäss alle Aktivität im C-2 (Formiat) des Isoflavons befindet³. Die schwache Aktivität im Formononetin muss zumindest zum Teil auf einer radioaktiven Verunreinigung beruhen, da im Formiat nur 35% der Aktivität gefunden wurden. Die Frage bleibt daher zunächst offen, ob eine reduktive Eliminierung der 2'-Hydroxylgruppe am Chalkon (bzw. 5-Hydroxylgruppe am Isoflavon) möglich ist, oder ob diese Reduktion bereits in der offenkettigen Poly-β-ketosäure erfolgt, wie es BIRCH für wahrscheinlicher hält⁶.

Eine interessante Beobachtung machten wir bei der Aufstellung einer Aktivitätsbilanz. Dabei wurde festgestellt, dass ein erheblicher Teil der Aktivität nach der Extraktion der Pflanzen mit Alkohol im Unlöslichen verbleibt. Auch mit Pyridin/Wasser (1:1) geht von dieser

Aktivität nur wenig in Lösung. Um festzustellen, ob es sich bei dieser Verbindung um ein Polymeres handelt, wurde der Rückstand nacheinander in folgender Weise behandelt: (a) 2n HCl, 1 h bei 80°; (b) konz. HCl/Methanol (1:1), 8 min zum Sieden und (c) konz. HCl/n-Butanol (1:5) 40 min auf 120° im Bombenrohr. Unter letzterer Bedingung wurden von WEINGES die polymeren Pro-anthocyanidine hydrolysiert⁷. Nach dieser Behandlung blieben noch etwa 18% der Aktivität im Rückstand. Ein ähnliches Ergebnis wurde mit dem 7,4'-Dihydroxyflavon-7-glucosid-[2-¹⁴C] erhalten (Tabelle II). Behandelte man den Rückstand nach der Säurehydrolyse mit Cuoxam (Cu-tetraminhydroxyd), um noch vorhandene Cellulose zu lösen, so erhöhte sich die spezifische Aktivität. Mikroskopisch bestand

Tab. I. Radioaktivitätsverteilung auf die Isoflavone und deren Abbauprodukte. Aktivitätsbestimmung im Proportionalzählrohr⁸. Zählgerät mit Antikoinzidenzanlage (UNI/ZS Prof. BERTHOLD, Wildbad)

Verbindung	ipm/mMol (mit inaktivem Material verdünnt)	ipm/mMol (unverdünnt)
Chalkon	—	~2,6 × 10 ⁹
Biochanin-A	8300	2,5 × 10 ⁶
Formiat aus Biochanin-A	8150	2,44 × 10 ⁶
Formononetin	770	4,2 × 10 ⁵
Formiat auf Formononetin	270	1,5 × 10 ⁵

¹ VI. Mitt. Zur Biogenese der Isoflavone. V. Mitt. H. GRISEBACH und G. BRANDNER, Biochim. biophys. Acta 60, 51 (1962).

² Monsieur CERVONI, Directeur du Service Economique de la Chambre d'Agriculture du Vaucluse, Avignon, danken wir für die Samen der Kichererbse.

³ H. GRISEBACH und G. BRANDNER, Z. Naturforschg. 16b, 2 (1961).

⁴ H. GRISEBACH und L. PATSCHKE, Z. Naturforschg. 16b, 645 (1961).

⁵ H. SIMON, H. DANIEL und J. F. KLEBE, Angew. Chem. 71, 303 (1959).

⁶ A. J. BIRCH, Fortschr. Chem. org. Naturst. 14, 198 (Springer Verlag, Wien 1957).

⁷ K. WEINGES, Chem. Ber. 94, 3032 (1961).

Tab. II. Verteilung der Radioaktivität nach verschiedener Behandlung der Cicer-Triebe

	Prozent der aufgenommenen Aktivität
Versuch mit Tetrahydroxychalkonglucosid-[β-¹⁴C]	
Cicer-Triebe	100
Methanol-Extrakt	67
Rückstand	33
Rückstand nach Extraktion mit Pyridin/Wasser	25
Rückstand nach Hydrolyse im Bombenrohr	18
Versuch mit 7,4'-Dihydroxyflavon-7-glucosid-[2-¹⁴C]	
Cicer-Triebe	100
Methanol-Extrakt	40
Rückstand	60
Rückstand nach Hydrolyse im Bombenrohr	24

das Unlösliche aus noch etwas verkrusteter Gerüstsubstanz.

Als Ursache für die starke Aktivität des Säureunlöslichen kommt ein Einbau des Chalkons oder eines Abbauproduktes desselben in das Lignin nicht in Frage, da die Fixierung der Aktivität an das Säureunlösliche nicht nur in Trieben und Homogenaten, sondern auch in hitzedenaturierten Homogenaten oder in Gegenwart von Methanol/HCl erfolgt. Durch Zusatz von Rutin wurde die Fixierung merklich gehemmt, nicht aber durch Resacetophenon-4-glucosid und Phloroglucin.

Es wäre daran zu denken, dass die Fixierung durch Reaktionen zustande kommt, wie sie bei der Phloroglucin-Salzsäure-Reaktion mit Lignin ablaufen⁸. Auf jeden Fall wird durch diese noch ungeklärte Reaktion ein grosser Teil des eingesetzten Chalkons bereits in den Leitungsbahnen der Pflanze abgefangen, wodurch nur wenig Chalkon zur Biosynthese der Isoflavone in der Zelle zur Verfügung steht. Dies dürfte neben der Permeabilitätsfrage einer der Gründe sein, warum der prozentuale Einbau in die Isoflavone³ und Flavonoide⁴ relativ schlecht ist⁹.

Summary. 2',4,4',6'-Tetrahydroxychalcone-2'-glucoside-[β -¹⁴C] is incorporated into biochanin-A in chana germ (*Cicer arietinum* L.) without randomization of the radioactivity. Possibly a very low incorporation into formononetin occurs also. After administration of the chalcone a large part of the activity is bound to the acid insoluble residue of the cicer shoots (lignin-like substances) in an (as yet) undetermined manner. This binding also occurs in heat denatured homogenates.

H. GRISEBACH und G. BRANDNER

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br. (Deutschland), 19. Juni 1962.

⁸ J. C. PEW, J. Amer. Chem. Soc. 73, 1678 (1951).

⁹ Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und den Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

The Condensation of Anthranilic Acid with S-Methyl-2-Thiohydantoin¹

The condensation of aromatic amines with S-methyl-2-thiohydantoin leading to N²-aryl-glycocyanimides gives, if applied to anthranilic acid, a product (mp.: about 340°, incorr., decomp.; found: C 59.56 H 3.70 N 20.60; C₁₆H₁₁N₃O₂ requires C 59.70 H 3.55 N 20.89) which contains 1 Mol water less than the expected glycocyanimidine I². This means, evidently, the formation of a third ring and thus the product may correspond to the alternative structures IIa or IIb.

Since glycocyanimides³ and the related hydantoins and 2-thiohydantoins⁴, if unsubstituted at N¹, are always acylated at N¹, structure IIa seems much more probable for the condensation product.

Structures IIa or IIb were suggested by GROUT and PARTRIDGE⁵ for a substance (mp.: 350°, corr.) resulting

from the condensation of methyl anthranilate and ethyl N-cyanoglycinate (prepared *in situ*). By kindness of the British authors, we had the opportunity to compare both condensation products by their mp., mixed mp. (about 340°, incorr., decomp.) and IR spectra, and found them to be identical.

For the unambiguous synthesis of compound IIa we have chosen the routes a and b:

¹ Part X. Hydantoins, thiohydantoins and glycocyanimides. Part IX. K. LEMPERT, Chem. Ber., 95, 1066 (1962).

² K. LEMPERT and J. BREUER, unpublished.

³ CH. LEMPERT, Chem. Rev. 59, 700 (1959).

⁴ E. WARE, Chem. Rev. 46, 429 (1950).

⁵ R. J. GROUT and M. W. PARTRIDGE, J. chem. Soc. (London) 1960, 3551.

