

auf 40—50° erwärmt. Nachdem das Wasser abdestilliert war, ist die Badtemperatur noch während etwa 30 Minuten auf 100° gehalten worden, worauf das in der Kälte teilweise krystallinisch erstarrte Reaktionsprodukt mit Äther und Wasser ausgeschüttelt worden ist. Die mit verdünnter Ammoniaklösung und dann mit Wasser gewaschene ätherische Schicht hinterliess nach dem Abdestillieren des Äthers 2 g eines gelben Öls, welches in Alkohol gelöst und mit Wasser versetzt, rasch krystallisierte. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren wurde der Smp. 105° erreicht. Die Mischprobe mit dem unter 1 beschriebenen Präparat vom Smp. 105—107° ergab keine Erniedrigung.

Wissenschaftliche Laboratorien der Gesellschaft  
für Chemische Industrie in Basel,  
Textilhilfsmittelabteilung.

---

## XXVI. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe<sup>1)</sup>.

54. Mitteilung<sup>2)</sup>.

**Trennungsmethoden, Isolierung von Substanz U und ihre  
Teilsynthese aus Substanz E**  
von T. Reichstein und J. von Euw.

(30. X. 41.)

Nachdem aus Nebennierenextrakten eine Reihe von über 20 nahe verwandten Steroiden isoliert worden war, stiess die Abtrennung weiterer in dem Gemisch vorhandener Vertreter dieser Körperklasse, die aus verschiedenen Gründen Interesse besitzt, auf steigende Schwierigkeiten. Diese konnten durch verschärzte Trennungsmethoden teilweise überwunden werden. Vor allem bewährte sich die chromatographische Trennung nach vorheriger Acetylierung. Diese Methode ist bisher vor allem zu Trennungen in der C<sub>21</sub>O<sub>3</sub>- und der C<sub>21</sub>O<sub>4</sub>-Gruppe benutzt worden<sup>3)</sup>. Inzwischen wurde sie auch auf einzelne Fraktionen, die besonders Vertreter der C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe enthalten, übertragen. Sie liefert auch hier sehr gute Ergebnisse, die allerdings teilweise durch erheblichen Arbeitsaufwand erkauft werden

<sup>1)</sup> Diese Mitteilung dient als Ersatz des ursprünglich für den Fasciculus extraordinarius bestimmten Artikels, dessen experimentelle Bearbeitung nicht mehr rechtzeitig abgeschlossen werden konnte.

<sup>2)</sup> 53. Mitteilung, vgl. J. von Euw, T. Reichstein, Helv. **24**, 1140 (1941).

<sup>3)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 546 (1938); T. Reichstein, J. von Euw, Helv. **21**, 1197 (1938); **22**, 1222 (1939) u. a.

müssen, da zur Trennung dieser stark sauerstoffhaltigen, teilweise isomeren oder sehr nahe verwandten Stoffe die Chromatographie meist mehrmals wiederholt werden muss. Wir beschreiben im folgenden die Isolierung von Substanz U mit Hilfe solcher Methoden. Im experimentellen Teil wird auch die Konzentrierung und Vortrennung der Extrakte nochmals kurz beschrieben, die gegenüber dem früheren Verfahren<sup>1)</sup> insbesondere in zwei Punkten modifiziert wurde:

1. Zum Ausschütteln wurde weitgehend reiner Essigester verwendet, was sich als besonders bequem und günstig erwies.
2. Die Konzentrate wurden vor der weiteren Verarbeitung mit Kaliumhydrogencarbonat in wässrigem Methanol bei Zimmertemperatur verseift, um evtl. vorhandene Ester zu spalten<sup>2)</sup>.

Bei der Verteilung der mit *Girard's* Reagens abgetrennten Keto-Hauptfraktion aus Konzentraten der Nebennierenrindenhormone zwischen Benzol und Wasser konnte früher aus den leichtest wasserlöslichen Anteilen Substanz E (I) in krystallisierter Form isoliert werden<sup>1)</sup>. Diese relativ schlecht krystallisierte Substanz lässt sich, wie jetzt festgestellt wurde, durch ein ausgezeichnet krystallisiertes Diacetat (II) charakterisieren. Beim Versuch, aus den Mutterlaugen von Substanz E durch Acetylierung und chromatographische Trennung noch mehr des Diacetats (II) abzutrennen, wurde dieses zwar erhalten, daneben aber in relativ reichlicher Menge noch das Diacetat eines neuen Stoffes, den wir Substanz U nennen. Eine kleine Menge desselben liess sich auch aus den stärker benzollöslichen Anteilen isolieren. Die daraus durch alkalische Verseifung leicht erhältliche freie Substanz U konnte bisher nicht in krystallisierter Form gewonnen werden<sup>3)</sup>, weshalb die Untersuchung des neuen Stoffes am Diacetat durchgeführt wurde. Dieses krystallisiert aus Aceton-Äther in farblosen, beidseitig zugespitzten Nadeln vom Smp. 252—253° und besitzt die spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{21} = +178,5^\circ \pm 2^\circ$  (in Aceton). Es zeigt in alkoholischer Lösung im U.V.-Absorptionsspektrum starke selektive Absorption mit einem Maximum bei 239 m $\mu$  und  $\log \epsilon = 4,1^4)$  und stellt somit ein  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Keton dar. Die Lösung in Methanol reduziert alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur nur äusserst langsam, wodurch das Vorliegen einer Ketolseitenkette ausgeschlossen wird. Die Analysen stimmen gut auf die Formel C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>7</sub>, die zwei Wasserstoffatome weniger als das Diacetat von Substanz E (II) (C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub>) enthält. Dieser Umstand

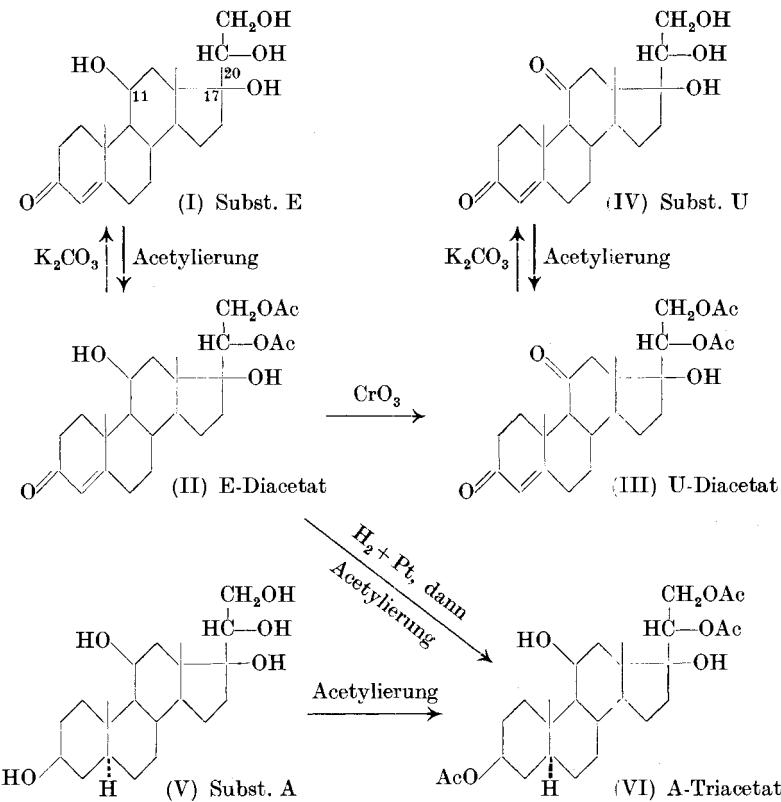
<sup>1)</sup> *T. Reichstein*, Helv. **20**, 953 (1937).

<sup>2)</sup> Ob diese Operation vorteilhaft ist, kann erst nach Abschluss der biologischen Versuche entschieden werden, die noch im Gange sind.

<sup>3)</sup> Die Krystallisation ist inzwischen erfolgt. Die Substanz scheidet sich aus Aceton-Äther in sternförmig gruppierten, farblosen Nadeln ab, die bei 208° korrig. schmelzen.

<sup>4)</sup> Wir verdanken diese Messung Herrn P. D. Dr. H. Mohler, Zürich.

sowie die genannten Eigenschaften des Stoffes gaben Anlass zur Vermutung, es könnte sich bei Substanz U um eine Verbindung der Formel (IV) handeln. Durch die folgende einfache Teilsynthese aus Substanz E konnte die vermutete Konstitution eindeutig bewiesen werden.



E-Diacetat (II) wurde vorsichtig mit Chromsäure oxydiert und gab sofort reines U-Diacetat (III). Damit ist nicht nur die Konstitution völlig gesichert, sondern auch festgestellt, dass die beiden Stoffe in 17- und 20-Stellung dieselbe Konfiguration besitzen. Anschliessend wurde die Konfiguration dieser zwei Stoffe noch mit derjenigen von Substanz A (V) verknüpft. Zu diesem Zwecke wurde E-Diacetat (II) mit Platinoxyd in Eisessig völlig hydriert und das Hydrierungsprodukt acetyliert. Aus dem erhaltenen Substanzgemisch konnte in mässiger Ausbeute (23 %) ein einheitlicher Stoff isoliert werden, der sich nach Schmelzpunkt, spez. Drehung und Mischprobe als identisch mit A-Triacetat (VI) erwies. Somit besitzen alle drei Substanzen, A, E und U, in 17- und 20-Stellung dieselbe Konfiguration, darüber hinaus ist auch die 11-ständige

Hydroxylgruppe bei den Substanzen A und E räumlich gleich angeordnet.

Erwähnenswert ist bei dieser Hydrierung, dass mehr als 2 Äquiv. Wasserstoff verbraucht wurden, was darauf schliessen lässt, dass teilweise Sauerstoff herausreduziert wurde. Dies liess sich auch präparativ durch Isolierung eines Nebenproduktes (Gemisches) mit niedrigerem Sauerstoffgehalt als A-Triacetat bestätigen. Bisher ist bei der katalytischen Hydrierung von Nebennieren-Steroiden unter den genannten Bedingungen noch nie Sauerstoffverlust beobachtet worden; insbesondere ist A-Triacetat dabei völlig beständig.

Wir danken der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel, der *Haco-Gesellschaft*, Gümligen, und der *N. V. Organon*, Oss (Holland), für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

#### Anreicherung und Trennung der Konzentrate.

Das Rohprodukt, ein fabrikatorisch gewonnener Extrakt aus 500 kg ganzen Nebennieren<sup>1)</sup>, wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, der trockene Rückstand (150 g) in 4 Liter reinstem tiefstesiedendem Petroläther gelöst und 40mal mit je 200 cm<sup>3</sup> 30-proz. Methanol sehr energisch ausgeschüttelt. Die wässrig-methanolischen Auszüge passierten der Reihe nach noch drei weitere Scheidetrichter mit 800, 600 und 500 cm<sup>3</sup> Petroläther, in denen sie nochmals von Resten petrolätherlöslicher Stoffe befreit wurden. Es wurde jedesmal bis zur völligen Klärung der wässrigen Phase und möglichst vollständigen Trennung der Schichten stehen gelassen. Die vereinigten wässrig-alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum bei 40° Badtemperatur auf 100 cm<sup>3</sup> eingeengt und 11mal mit je 300 cm<sup>3</sup> reinstem Essigester ausgeschüttelt. Die ersten 7 Essigesterauszüge wurden zusammen in einen Scheidetrichter gegeben, die weiteren 4 Auszüge in einen zweiten, dann wurden noch 3 weitere Scheidetrichter mit je 100 cm<sup>3</sup> frischem Essigester vorgelegt und die Auszüge der Reihe nach dreimal mit verdünnter Salzsäure, zweimal mit wenig Wasser, fünfmal mit je 35 cm<sup>3</sup> gesättigter wässriger Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und zum Schluss viermal mit je 35 cm<sup>3</sup> Wasser gewaschen. Die hellgelben Essigester-Lösungen wurden nunmehr über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bei 40° Badtemperatur eingedampft. Der Trockenrückstand wurde mit 600 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem Äther und 200 cm<sup>3</sup> Wasser in einen Scheidetrichter gespült, zwei weitere Scheidetrichter mit je 300 cm<sup>3</sup>

<sup>1)</sup> Das Material wurde uns wieder von der *N. V. Organon*, Oss (Holland), zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei. Es entsprach dem früher in *Helv. 19*, 1107 (1936) beschriebenen. Ebensogut können Konzentrate verwendet werden, die nicht über Permutit filtriert sind.

reinem Äther wurden vorgelegt. Dann wurden die Äther-Lösungen der Reihe nach 25 mal mit je 200 cm<sup>3</sup> Wasser sehr kräftig ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Sie lieferten 5,5 g Ätherrest.

Die vereinigten Wasserauszüge (5 Liter) wurden im Vakuum bei 40° Badtemperatur auf 150 cm<sup>3</sup> eingedampft und 15 mal mit je 400 cm<sup>3</sup> Äther ausgeschüttelt. Diese Ätherlösungen wurden zur Reinigung noch mit der Lösung von 10 g Kaliumhydrogencarbonat und 3 g Kaliumcarbonat in 30 cm<sup>3</sup> Wasser kräftig ausgeschüttelt, dann zweimal mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. (Die Waschlösungen passierten wieder drei weitere Scheidetrichter mit frischem Äther.) Erhalten wurden 6,44 g Fraktion C. 13.

Die mit Äther ausgeschüttelte, wässrige Restlösung wurde noch 6 mal mit je 250 cm<sup>3</sup> Essigester ausgeschüttelt und die Auszüge mit der gleichen Mischung wie die Ätherlösung entsäuert. Nach Waschen mit etwas Wasser und Trocknen über Natriumsulfat wurde im Vakuum eingedampft. Es verblieb ein dunkelbrauner Rückstand, der 490 mg wog und für sich weiter verarbeitet wurde.

**Vorreinigung des Ätherrests.** Die 5,5 g Ätherrest wurden zur Verseifung vorhandener Ester zunächst in 300 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 5 g Kaliumhydrogencarbonat in 100 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde das Methanol im Vakuum völlig entfernt, der Rückstand dreimal mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung zehnmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 4,9 g neutraler Ätherrest, der, genau wie früher beschrieben, mit *Girard's Reagens* weiter getrennt wurde.

Die wässrigen Hydrogencarbonatlösungen und alle Waschwässer wurden vereinigt, im Vakuum auf 100 cm<sup>3</sup> eingeengt, viermal mit Essigester bei 0° ausgeschüttelt, die Essigesterauszüge mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wog 380 mg. Er wurde mit der Fraktion C. 13 vereinigt, sodass diese total 6,82 g wog.

#### Trennung der Fraktion C. 13 mit *Girard's Reagens*.

6,55 g der Fraktion C. 13 (entspr. 480 kg Nebennieren, der Rest wurde für biologische Prüfungen verwendet) wurden mit 7 g *Girard's Reagens T<sup>1</sup>*) in 4 cm<sup>3</sup> Eisessig und 80 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und 10 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum bei 0° entfernt, der Rückstand möglichst rasch mit so viel gekühlter Sodalösung versetzt, dass die Mischung auf Phenolphthalein-Papier eben leichte Rosafärbung hervorrief und

<sup>1)</sup> A. Girard, G. Sandulesco, Helv. 19, 1095 (1936).

siebenmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  tief gekühltem, reinstem Essigester bei etwa  $-10^\circ$  ausgeschüttelt<sup>1)</sup>. Die Essigesterauszüge wurden einmal mit  $25 \text{ cm}^3$  stark verdünnter Sodalösung nachgewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im reduzierten Vakuum eingedampft. Der Rückstand wog 3,295 g (A-Ketonfreies). Es krystallisierten daraus 145 mg Krystalle vom Smp.  $137-140^\circ$ .

Die wässrige Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure bis zur lackmussauren Reaktion versetzt und siebenmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester ausgeschüttelt. Nach jedem Ausschütteln wurde mit Lackmus geprüft und nach Bedarf noch etwas verdünnte Salzsäure zugetropft. Aus der entsäuerten, gewaschenen und getrockneten Essigesterlösung erhielt man nach dem Eindampfen im reduzierten Vakuum 310 mg der Ketofraktion C. 17. A. I.

Die lackmussaure, wässrige Lösung wurde nun unter Röhren mit konz. Salzsäure bis zur eben deutlich kongosauren Reaktion versetzt und zehnmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester ausgeschüttelt. Der wie oben verarbeitete Essigesterauszug lieferte 2,77 g der Ketofraktion C. 17. A. II + III.

Die saure, wässrige Lösung wurde nunmehr mit  $\frac{1}{10}$  ihres Volumens an konz. Salzsäure versetzt und noch siebenmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester ausgeschüttelt. Erhalten wurden daraus 200 mg der Ketofraktion C. 17. A. IV.

Alle Essigesterauszüge wurden jeweils mit  $30 \text{ cm}^3$  gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung ausgewaschen, der von Zeit zu Zeit wieder etwas festes Kaliumhydrogencarbonat zugefügt wurde.

#### Abtrennung der B-Ketone.

Die 3,15 g A-Ketonfreies aus Fraktion C. 13 wurden mit 3 g *Girard's* Reagens T,  $1,6 \text{ cm}^3$  Eisessig und  $50 \text{ cm}^3$  Methanol 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Dann wurde auf  $-10^\circ$  abgekühlt, möglichst rasch gekühlte Sodalösung bis zur knapp alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein zugegeben, das Methanol bei  $0^\circ$  im Vakuum entfernt und achtmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  gekühltem Essigester ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden je einmal mit  $25 \text{ cm}^3$  Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im reduzierten Vakuum eingedampft. Sie ergaben 2,83 g Fraktion C. 16. (Ketonfreies). Die wässrige Lösung wurde mit Salzsäure bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt, sechsmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester ausgeschüttelt und diese Auszüge der Reihe nach einmal mit  $30 \text{ cm}^3$  gesättigter

<sup>1)</sup> Sicherer, aber weniger bequem ist es, den auf  $-10^\circ$  gekühlten Ansatz zuerst mit verdünnter Sodalösung zu versetzen und dann erst das Methanol im Vakuum zu entfernen. Dies beeinflusst aber nur die Ausbeute an „leicht abspaltbaren Ketonen“, nicht diejenige der wichtigen Fraktion C. 17. A. II + III, die fast ausschliesslich  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone enthält.

Kaliumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen (dieselbe Portion für alle Auszüge). Sie ergaben nach dem Trocknen und Eindampfen im Vakuum 185 mg Ketofaktion C. 17. B. I.

Der wässrige Teil gab nach Zusatz von  $\frac{1}{10}$  seines Volumens an konz. Salzsäure, viermaligem Ausschütteln mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester und Waschen wie oben 55 mg Ketofaktion C. 17. B. II.

Wie sich aus den Ausbeuten ergibt, betrug der Verlust bei der ganzen Trennung nur 55 mg.

#### Vorverseifung und Benzol-Wasser-Trennung der Ketofaktion C. 17. A. II + III.

2,65 g der Ketofaktion C. 17. A. II + III (entspr. 460 kg Drüse, der Rest wurde für biologische Prüfungen verwendet) wurden in  $100 \text{ cm}^3$  Methanol gelöst, mit der Lösung von 2 g Kaliumhydrogencarbonat in  $40 \text{ cm}^3$  Wasser versetzt und 70 Stunden bei  $20^\circ$  stehen gelassen. Dann wurde das Methanol bei Zimmertemperatur im Vakuum vollständig entfernt und der wässrige Rückstand zehnmal mit je  $350 \text{ cm}^3$  reinem Benzol ausgeschüttelt. (Wenig harziges Material blieb dabei ungelöst, es wurde zum Schluss mit etwas Aceton gesammelt und getrocknet. Es wog 50 mg und wurde als „Harz I“ bezeichnet.) Die Benzolauszüge wurden zweimal mit je  $20 \text{ cm}^3$  Wasser ausgewaschen.

Die wässrigen Anteile und die genannten zwei Waschwässer wurden sechsmal mit je  $300 \text{ cm}^3$  Essigester bei  $0^\circ$  kräftig ausgeschüttelt, die Auszüge einmal mit  $25 \text{ cm}^3$  gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit  $20 \text{ cm}^3$  Wasser gewaschen, über Natriumsulfat geklärt und im reduzierten Vakuum eingedampft. Der Rückstand wog 410 mg („Wasserrest I“).

Aus den alkalischen wässrigen Resten konnten nach Ansäuern mit Salzsäure und Ausschütteln mit viel Äther 275 mg Säuren gewonnen werden, die nicht weiter untersucht wurden.

Die vereinigten Benzolauszüge wurden im reduzierten Vakuum auf  $200 \text{ cm}^3$  eingeengt und zehnmal mit je  $200 \text{ cm}^3$  reinstem Wasser kräftig ausgeschüttelt, wobei jeweils bis zur völligen Klärung der Schichten stehen gelassen wurde. Die Wasserauszüge passierten der Reihe nach einen zweiten Scheidetrichter mit  $100 \text{ cm}^3$  Benzol, wo sie nochmals nachgeschüttelt wurden. Die verbleibenden Benzollösungen wurden über wenig Natriumsulfat getrocknet, im reduzierten Vakuum eingedampft und hinterliessen 775 mg „Benzolrest I“ (daraus liessen sich durch Krystallisation aus Aceton-Äther 200 mg kryst. Corticosteron isolieren).

Die wässrigen Auszüge wurden bei  $40^\circ$  Badtemperatur im Vakuum auf  $100 \text{ cm}^3$  eingedampft und zwölfmal mit je  $250 \text{ cm}^3$  Benzol kräftig ausgeschüttelt (15 mg Harz II blieb ungelöst). Die Benzol-

auszüge wurden über Natriumsulfat geklärt, im reduzierten Vakuum eingedampft und hinterliessen 970 mg „Benzolextrakt“.

Die wässrige Lösung wurde im Vakuum völlig eingedampft und ergab 85 mg „Wasserrest II“. Das zur Trocknung der Benzolauszüge der ersten Benzol-Wasser-Trennung verwendete Natriumsulfat wurde mit etwas Methanol ausgekocht, die Methanolösung eingedampft und der Rückstand mit dem Harz I vereinigt. Dieses Material ist in den genannten 50 mg inbegriffen.

### Trennung von Wasserrest I.

Die 410 mg Wasserrest I wurden in wenig Aceton gelöst, mit Wasser bis zur leichten Trübung versetzt, mit Substanz E angeimpft und einige Stunden bei 0° stehen gelassen. Es krystallisierten 40 mg Substanz E vom Smp. 118—123°. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther erhöhte diesen auf 130—135°. Die so gereinigten Krystalle wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, mit 0,3 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschliessend noch 1 Stunde auf 50° erwärmt. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Äther gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 6 mg E-Diacetat vom Smp. 225—227° als farblose, wollige Nadelbüschel. Die Mutterlaugen wurden mit den amorphen Anteilen des Wasserrests I vereinigt, das Ganze analog wie oben acetyliert und das erhaltene Acetatgemisch (430 mg) chromatographisch nach der Durchlaufmethode über 12 g Aluminiumoxyd getrennt. Es wurde mit je 50 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel nachgewaschen.

Die ersten 6 mit Benzol-Petroläther sowie mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate gaben nur wenig syrupöses Material. Die folgenden 11 mit Benzol-Äther sowie mit reinem Äther gewonnenen Eluate gaben ebenfalls amorphe Rückstände.

Die 18., mit absolutem Äther eluierte Fraktion lieferte wenig Krystalle vom Smp. 205—215°, die beim Anfeuchten mit konz. Schwefelsäure keine grüne Fluoreszenz gaben.

Die folgenden 12 mit je 50 cm<sup>3</sup> absolutem Äther, sowie mit Äther-Aceton-Gemischen von bis zu 15 % steigendem Acetongehalt erhaltenen Eluate lieferten insgesamt 60 mg Krystalle, die alle ungefähr bei 220—228° schmolzen, mit konz. Schwefelsäure grüne Fluoreszenz gaben, aber noch ein Gemisch darstellten. Sie wurden mit rohem E-Diacetat aus früheren Versuchen zusammen nochmals chromatographiert (vgl. 2. Chromatographie).

Die Fraktion Nr. 31 (mit Äther-Aceton 7 : 3 eluiert) gab ca. 2 mg Krystalle vom Smp. 245—250°, die mit konz. Schwefelsäure starke, grüne Fluoreszenz gaben. Sie wurden mit analogen Krystallen anderer Trennungen vereinigt.

Die folgenden, mit Essigester-Chloroform und Methanol eluierten Anteile gaben noch 70 mg braunen Syrup.

### Zweite Chromatographie.

100 mg Substanz E (Rohkristallisiert früherer Herstellung) wurden wie oben acetyliert, das acetylierte Produkt (110 mg) mit den 60 mg Krystallen der ersten Chromatographie vereinigt und das Ganze (170 mg) über eine Säule von 5 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 15 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.

Die ersten 9, mit absolutem Benzol sowie mit Benzol-Äther-Gemischen bis zu 60 % Äthergehalt erhaltenen Eluate gaben lediglich wenig Syrup, der mit den analogen Fraktionen der ersten Chromatographie vereinigt und für spätere Untersuchungen aufgehoben wurde.

Die Fraktionen Nr. 10—22, die mit absolutem Äther sowie mit Äther-Aceton-Gemischen bis zu einem Gehalt von 45 % Aceton eluiert worden waren, gaben durch Umkristallisieren aus Aceton-Äther 65 mg E-Diacetat vom Smp. 229—230°,  $[\alpha]_D^{22} = +162,7^\circ \pm 2^\circ$  (Aceton).

Die Fraktion Nr. 23 (mit Äther-Aceton 4 : 6 eluiert) gab wenig feine Nadeln vom Smp. 245—250°, die mit den Krystallen aus Fraktion 31 der ersten Chromatographie vereinigt wurden.

Die Fraktionen Nr. 24—27 (eluiert mit Aceton-Äther sowie Aceton-Äther + 5, 10 und 20 % Chloroform) gaben etwas Krystalle in Form harter Körner vom Smp. 238—241°, die mit konz. Schwefelsäure eine sehr starke grüne Fluoreszenz gaben. Die Mischprobe mit dem ähnlich schmelzenden Acetat der Substanz Fa. gab starke Schmelzpunktserniedrigung.

### Dritte Chromatographie.

Die von den rohen Krystallen der Substanz E befreiten Anteile der Wasserreste I früherer Herstellung wurden acetyliert und das rohe Acetat (1,45 g) über 45 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 150 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.

Die ersten 5 mit Benzol-Petroläther sowie mit absolutem Benzol gewonnenen Eluate lieferten wenig Rückstand, der eine Spur kristallisierten Schwefels enthielt. Die Fraktionen 16—19, die mit Benzol-Äther-Gemischen, reinem Äther, sowie Äther-Aceton (98 : 2) eluiert worden waren, gaben total etwa 800 mg fast farblosen Syrup.

Die weiteren Fraktionen Nr. 20—28, die mit Äther-Aceton-Gemischen von bis zu 60 % ansteigendem Acetongehalt eluiert worden waren, gaben Krystalle. Alle diese Fraktionen wurden einzeln kristallisiert und die identischen Anteile vereinigt.

Aus den Fraktionen 20—22 wurde ein in dreieckigen Blättchen krystallisierender Stoff vom Smp. 220—222° erhalten, der sich nach Mischprobe mit M-Acetat als identisch erwies.

Fraktion Nr. 23 gab ein Gemisch von Körnern (Smp. 212—218°), Drusen (Smp. 274—279°) und Nadeln (Smp. 226—231°). Die letzteren wurden mit Fraktion 24 und einem entsprechenden Teil von Fraktion 25 vereinigt und zusammen umkrystallisiert, wobei reines E-Diacetat vom Smp. 229—230°,  $[\alpha]_D^{20} = +167,8^\circ \pm 2^\circ$  (Aceton) resultierte.

Die Fraktionen 26—28 sowie ein bei 230—240° schmelzender Anteil der Fraktion Nr. 25 gaben beim Umkrystallisieren aus Aceton-Äther reines U-Diacetat vom Smp. 250—251°,  $[\alpha]_D^{20} = +178,5^\circ \pm 2^\circ$  (Aceton).

Die mit Äther-Aceton-Chloroform, zuletzt mit Chloroform-Methanol 1:1 eluierten Fraktionen Nr. 29—40 gaben nur braunen Syrup. (Lediglich Fraktion 31 gab wenig dunkle Krystalle vom Smp. 355—365° Zers.)

#### Vierte Chromatographie.

330 mg Wasserrest II (es wurde das obgenannte Material sowie analog bereitetes aus früheren Herstellungen verwendet) wurden acetyliert und das rohe Acetatgemisch (360 mg) über 11 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 35 cm<sup>3</sup> der in der Tabelle 1 genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—13 lieferten nur syrupöses Material.

Aus den Fraktionen 14—16 liessen sich etwa 15 mg reines E-Diacetat vom Smp. 229—231° gewinnen.

Die Fraktionen 17—21 stellten Gemische dar, aus denen durch fraktioniertes Umkrystallisieren sowie durch Waschen mit Chloroform etwa 15 mg M-Acetat vom Smp. 220—222° gewonnen wurden, ausserdem einige mg der zunächst in Drusen, dann in Blättchen krystallisierenden Substanz vom Smp. 276—278° (vgl. 3. Chromatographie) und endlich eine kleine Menge nicht ganz reines U-Diacetat vom Smp. 234—240°.

Die Fraktionen 22—29 gaben nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther etwa 30 mg fast reines U-Diacetat vom Smp. 243—248°.

Die Fraktionen 30—42 gaben lediglich etwas braunen Syrup.

#### Trennung von Benzolextrakt (5. Chromatographie).

1,1 g Benzolextrakt aus C. 17. A. II + III, aus dem die Substanzen M. und Fa. vorher durch Krystallisation möglichst abgetrennt worden waren<sup>1)</sup> (dieses Material entstammte früheren Herstellungen), wurden acetyliert und das rohe Acetat (1,21 g) über 40 g

<sup>1)</sup> T. Reichstein, Helv. 19, 1107 (1936); 20, 953 (1937).

Tabelle 1.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand		
1	70%	Benzol	+ 30%	Petroläther		
2	100	"				wenig Syrup
3	100	"				
4	99	"	+ 1%	Äther		
5	98	"	+ 2	"		
6	97	"	+ 3	"		
7	96	"	+ 4	"		
8	92	"	+ 8	"		
9	85	"	+ 15	"		100 mg Syrup
10	70	"	+ 30	"		
11	40	"	+ 60	"		
12	100%	Äther				
13	100	"				
14	100	"				E-Diacetat
15	100	"				
16	100	"				
17	100	"				
18	100	"				
19	99	"	+ 1%	Aceton		Gemisch
20	99	"	+ 1	"		
21	98	"	+ 2	"		
22	98	"	+ 2	"		
23	97	"	+ 3	"		
24	96	"	+ 4	"		
25	95	"	+ 5	"		
26	94	"	+ 6	"		U-Diacetat
27	92	"	+ 8	"		
28	90	"	+ 10	"		
29	88	"	+ 12	"		
30	85	"	+ 15	"		
31	80	"	+ 20	"		
32	70	"	+ 30	"		
33	55	"	+ 45	"		
34	40	"	+ 60	"		
35	49,5	"	+ 49,5	"	+ 0,5% Chloroform + 0,5% Methanol	
36	49	"	+ 49	"	+ 1	" + 1 "
37	48	"	+ 48	"	+ 2	" + 2 "
38	46	"	+ 46	"	+ 4	" + 4 "
39	43	"	+ 43	"	+ 7	" + 7 "
40	35	"	+ 35	"	+ 15	" + 15 "
41	20	"	+ 20	"	+ 30	" + 30 "
42	50%	Chloroform + 50%	Methanol			

Tabelle 2.

Frak-tion Nr.	Lösungsmittel			Eindampfrückstand		
1	65%	Benzol	+ 35%	Petroläther		
2	80	"	+ 20	"		
3	100	"				
4	100	"			60 mg Syrup	
5	100	"				
6	100	"				
7	99	"	+ 1%	Äther		
8	99	"	+ 1	"		
9	98	"	+ 2	"		
10	97	"	+ 3	"	Roh 23 mg, daraus 2,5 mg Blättchen, Smp: 184—185°	
11	96	"	+ 4	"		
12	94	"	+ 6	"		
13	92	"	+ 8	"		
14	87	"	+ 13	"	Roh 19 mg, daraus 4 mg Nadeln Smp. 213—215°	
15	80	"	+ 20	"		
16	70	"	+ 30	"	Roh 44 mg, daraus 6 mg T-Diacetat. Smp. 209—211°.	
17	55	"	+ 45	"		
18	40	"	+ 60	"	100 mg Syrup	
19	100%	Äther				
20	100	"				
21	100	"				
22	100	"				
23	99	"	+ 1%	Aceton	Roh 23 mg, daraus 2 mg Kry-stalle. Smp. 205—206°	
24	99	"	+ 1	"		
25	98	"	+ 2	"		
26	98	"	+ 2	"		
27	97	"	+ 3	"	Gemische	
28	96	"	+ 4	"		
29	95	"	+ 5	"		
30	94	"	+ 6	"		
31	92	"	+ 8	"	40 mg M-Acetat	
32	90	"	+ 10	"		
33	88	"	+ 12	"		
34	85	"	+ 15	"		
35	80	"	+ 20	"	Gemische	
36	75	"	+ 25	"		
37	70	"	+ 30	"		
38	60	"	+ 40	"		
39	50	"	+ 50	"	+ 0,5% Chloroform + 0,5% Methanol	
40	40	"	+ 60	"		
41	49,5	"	+ 49,5	"		
42	49	"	+ 49	"		
43	48	"	+ 48	"	+ 1	
44	46	"	+ 46	"		
					+ 2	"
					+ 4	"

Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 120 cm<sup>3</sup> der in der Tabelle 2 genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—8 lieferten 60 mg Syrup, aus dem sich ausser wenig freiem Schwefel keine Krystalle abtrennen liessen.

Die Fraktionen 9—12 (total 23 mg) gaben aus Äther-Petroläther 5 mg Krystalle vom Smp. 169—181°. Umkristallisieren aus Äther lieferte 2,5 mg farbloser, teils unregelmässiger, teils viereckiger Blättchen vom Smp. 184—185°. Dieses Produkt konnte noch nicht identifiziert werden. Die Mischproben mit 11-Dehydro-corticosteronacetat sowie mit Androstan-trion-(3,11,17) gaben starke Schmelzpunktserniedrigungen.

Die Fraktionen 13—14 (19 mg) gaben Krystalle vom Smp. 190—208°. Umkristallisieren aus Aceton-Äther lieferte 4 mg farblose, unregelmässige Nadeln vom Smp. 213—215°. Auch dieses Produkt konnte nicht identifiziert werden. Die Mischprobe mit T-Diacetat ergab eine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Fraktionen 15—16 (44 mg) gaben Krystalle vom Smp. 190 bis 205°. Umkristallisieren aus Aceton-Äther lieferte 6 mg farbloser Prismen vom Smp. 209—211°. Diese erwiesen sich nach Mischprobe als identisch mit T-Diacetat.

Die Fraktionen 17—21 (total ca. 100 mg) konnten nicht kristallisiert werden.

Die Fraktionen 22—26 (total 23 mg) gaben kleine Drusen vom Smp. 185—200°. Umkristallisieren aus Aceton-Äther erhöhte diesen auf 201—203°. Nochmaliges Umkristallisieren aus wenig Chloroform mit Äther gab 2 mg Drusen feiner Nadeln vom Smp. 205—206°, welche mit konz. Schwefelsäure grüne Fluoreszenzreaktion gaben. Die Mischprobe mit dem ähnlich schmelzenden C-Diacetat gab eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

Die Fraktionen 27—29 lieferten zu Drusen vereinigte Nadeln (Smp. 190—210°), sowie Blättchen (201—213°). Diese Gemische konnten nicht getrennt werden.

Die Fraktionen 30—33 lieferten beim Umkristallisieren aus Aceton-Äther ca. 40 mg M-Acetat vom Smp. 218—221°.

Die Fraktionen 34—38 (total 100 mg) bestanden durchwegs aus Gemischen, die für sich nochmals chromatographiert wurden (vgl. 6. Chromatographie).

Die letzten Fraktionen 39—44 gaben nur noch braunen Syrup.

#### Sechste Chromatographie.

Die Gesamteluate der Fraktionen 34—38 der 5. Chromatographie (100 mg) wurden wie oben über 4 g Aluminiumoxyd erneut chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 10 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.

Die ersten 14 Fraktionen, von denen die letzte mit einem Gemisch von 91 % Äther und 9 % Aceton eluiert worden war, gaben nur wenig Syrup.

Die Fraktionen 15 (88 % Äther + 12 % Aceton) — 24 (75 % Äther + 25 % Aceton) lieferten nach Umkristallisieren aus Chloroform-Äther zunächst reines U-Diacetat vom Smp. 252—253°. Die Mutterlaugen gaben noch etwas Fa.-Acetat.

Die Fraktionen 25 (75 % Äther + 25 % Aceton) — 29 (70 % Äther + 30 % Aceton) waren Gemische von durchsichtigen und opaken Nadeln. Durch Umkristallisieren aus reinem Benzol, Chloroform-Äther, Methanol-Äther und Aceton-Äther konnte eine weitgehende Trennung erreicht werden. Erhalten wurde reines U-Diacetat sowie Fa.-Acetat. Das Letztere reduzierte alkalische Silberdiamminlösung sofort und stark.

Die Fraktionen 30 (70 % Äther + 30 % Aceton) — 35 (55 % Äther + 45 % Aceton) gaben zur Hauptsache reines U-Diacetat sowie noch etwas Fa.-Acetat.

### Siebente Chromatographie.

Alle unscharf schmelzenden Krystallgemische der 1., 2., 3., 4. und 6. Chromatographie (zusammen 180 mg) wurden über 6 g Aluminiumoxyd erneut chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 20 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel. Die ersten 13 mit Äther erhaltenen Eluate gaben nur Spuren Rückstand.

Die Fraktionen 14 (99 % Äther + 1 % Aceton) — 24 (97 % Äther + 3 % Aceton) stellten Gemische dar von Nadeln (Smp. 225—229°) und kleinen Drusen (Smp. 260—275°). Sie wurden durch mechanisches Aussehen möglichst getrennt. Die Nadeln lieferten nach einmaligem Umkristallisieren reines E-Diacetat. Die Drusen wurden mit dem analogen Material der 3. und 4. Chromatographie vereinigt und zusammen aus wenig Aceton-Äther umkristallisiert. Erhalten wurden 6 mg farblose, dünne Blättchen. Die Substanz reduziert, in wenig Methanol gelöst, alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur langsam, aber deutlich. Beim Erwärmen mit etwas 1,4-Dioxy-naphthalin in Eisessig-Salzsäure entsteht eine weinrote Färbung, mit konz. Schwefelsäure angefeuchtet, bleibt die Substanz farblos.

Die Fraktionen 25 (96 % Äther + 4 % Aceton) — 41 (70 % Äther + 30 % Aceton) gaben beim Umkristallisieren 95 mg reines E-Diacetat vom Smp. 229—231°.

Die Fraktionen 42 (70 % Äther + 30 % Aceton) — 44 (60 % Äther + 40 % Aceton) lieferten beim Umkristallisieren 15 mg fast reines U-Diacetat vom Smp. 243—253°.

Die Fraktion 45 (95 % Äther + 5 % Chloroform) gab keine Krystalle. Hingegen lieferten die Fraktionen 46 (90 % Äther + 10 % Chloroform) und 47 (80 % Äther + 20 % Chloroform) Krystallkörper vom Smp. 240—243°.

Die folgenden zwei Fraktionen 48 (60 % Äther + 40 % Chloroform) und 49 (40 % Äther + 60 % Chloroform) gaben keine Krystalle.

Fraktion 50 (20 % Äther + 80 % Chloroform) lieferte kleine Körnchen vom Smp. 235—241°.

Die folgenden zwei, mit reinem Chloroform eluierten Fraktionen gaben nur noch Spuren Syrup. Die Krystalle aus den Fraktionen 46—47 gaben mit denjenigen aus der Fraktion 50 eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Ebenso gaben beide bei der Mischprobe mit den Krystallen der Fraktion 26 der 2. Chromatographie eine deutliche Depression.

### E-Diacetat (II).

Das Diacetat krystallisierte aus Aceton-Äther in farblosen, beidseitig zugespitzten Nadeln, die bei 229—230° schmolzen. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{22} = +162,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,017$  in Aceton).

10,117 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{22} = +1,655^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,007 mg Subst. gaben 7,370 mg CO<sub>2</sub> und 2,14 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub> (448,54) Ber. C 66,94 H 8,09%,

Gef. „ 66,88 „ 7,96%.

Beim Anfeuchten der Substanz mit konz. Schwefelsäure entsteht eine orange Lösung, die auf schwarzer Unterlage grün fluoresziert. Wird etwas der Krystalle in wenig Methanol gelöst und mit stark alkalischer Silberdiamminlösung versetzt, so bleibt die Mischung bei Zimmertemperatur 5—10 Minuten farblos und dunkelt nur sehr langsam nach. Beim Erwärmen mit etwas 1,4-Dioxy-naphthalin in Eisessig-Salzsäure<sup>1)</sup> entsteht eine deutliche Rotfärbung mit einem Stich ins Bräunliche.

Verseifung. 22 mg E-Diacetat wurden in 2 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 40 mg Kaliumcarbonat in 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 2 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurden noch 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser zugegeben, das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit reinstem Essigester ausgeschüttelt, der Auszug über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab aus Aceton-Wasser 10 mg Krystalle vom Smp. 124—129°, die bei der Mischprobe mit dem früher beschriebenen Hydrat der Substanz E<sup>2)</sup> keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

<sup>1)</sup> H. Raudnitz, G. Puluž, B. **64**, 2212 (1931), vgl. auch K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz, Helv. **22**, 894 (1939). Diese sonst für Aldehyde charakteristische Reaktion fällt auch bei vielen Pregnanderivaten mit Glycin-Gruppierung positiv aus: D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. **24**, 945, Anm. 3 (1941).

<sup>2)</sup> T. Reichstein, Helv. **19**, 57 (1936); **20**, 953, 978 (1937).

## U-Diacetat (III).

Dieses Diacetat krystallisierte aus Aceton-Äther oder Chloroform-Äther in farblosen, beidseitig zugespitzten Nadeln vom Smp. 252 bis 253°, die dem E-Diacetat äusserlich sehr ähnlich, aber in den meisten Lösungsmitteln etwas schwerer löslich sind als dieses. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{21} = + 178,5^0 \pm 2^0$  ( $c = 0,924$  in Aceton).

9,356 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{21} = + 1,65^0 \pm 0,02^0$ .

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,197 mg Subst. gaben 10,325 mg CO<sub>2</sub> und 2,80 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

$C_{25}H_{34}O_7$ (446,52)	Ber. C 67,24	H 7,67%
Gef. „	67,14	„ 7,47%

Die Substanz gibt beim Anfeuchten mit konz. Schwefelsäure auch eine grüne Fluoreszenz, aber merklich schwächer als E-Diacetat. Gegen alkalische Silberdiamminlösung verhält sie sich wie E-Diacetat, ebenso bei der Reaktion mit 1,4-Dioxy-naphtalin, wobei lediglich eine rein rote Färbung entsteht. Das U.V.-Absorptionsspektrum ist bereits im theoretischen Teil erwähnt.

Die alkalische Verseifung von 44 mg U-Diacetat, wie beim E-Diacetat beschrieben, gab 38 mg freie Substanz U als farbloses, amorphes Glas, das bisher nicht krystallisiert werden konnte<sup>1)</sup>.

## Überführung von E-Diacetat in U-Diacetat.

22 mg E-Diacetat vom Smp. 229—230° wurden mit der Lösung von 5 mg Chromtrioxyd in 0,5 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum auf etwa 0,2 cm<sup>3</sup> eingeengt, in 30 cm<sup>3</sup> Äther aufgenommen, mehrmals mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (22 mg) gab aus Chloroform-Äther 20 mg farbloser Nadeln vom Smp. 252 bis 253°. Die Mischprobe mit dem direkt aus der Drüse isolierten Material gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Milde Oxydation mit wenig Chromsäure liess sich auch verwenden, um aus unreinem U-Diacetat, das als Verunreinigung hauptsächlich etwas E-Diacetat enthielt, sofort schmelzpunktsreines Produkt zu gewinnen.

## A-Triacetat (VI) und Nebenprodukte aus E-Diacetat (II).

44,8 mg E-Diacetat vom Smp. 299—230° wurden mit 26,4 mg Platinoxyd in 2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. In weniger als 1 Stunde waren 12,4 cm<sup>3</sup> Gas aufgenommen und die Hydrierung stand still.

<sup>1)</sup> Vgl. Anmerkung <sup>2)</sup>, Theoretischer Teil, S. 248.

Die Aufnahme entspricht mehr als den zur Hydrierung theoretisch nötigen 2 Äquiv. Da sich für das Platinoxyd  $4,8 \text{ cm}^3$  berechnen, hat die Substanz etwa  $7,6 \text{ cm}^3$  aufgenommen, während sich für 2 Äquiv.  $4,8 \text{ cm}^3$  und für 3 Äquiv.  $7,2 \text{ cm}^3$  berechnen. Eine gleiche Menge desselben Platinoxyds wurde zur Kontrolle hydriert und nahm  $5,0 \text{ cm}^3$  auf, so dass die Substanz wirklich etwa 3 Mol verbraucht hat.

Nach Abfiltrieren des Platins wurde die Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit  $0,6 \text{ cm}^3$  absolutem Pyridin und  $0,4 \text{ cm}^3$  Essigsäure-anhydrid 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in viel Äther gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das rohe Acetat wog 50 mg. Nach längerem Stehen mit etwas Äther schieden sich Krystalldrusen ab. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther lieferte 8 mg reines A-Triacetat als farblose Drusen vom Smp.  $217\text{---}219^\circ$ . Die Mischprobe mit authentischem A-Triacetat vom Smp.  $220\text{---}221^\circ$  gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Bestimmung der spez. Drehung wurde das Material mit den 2 mg reinen Krystallen der unten beschriebenen Chromatographie vereinigt. Gefunden wurde:  $[\alpha]_D^{15} = +75,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,011$  in Aceton).

$$10,238 \text{ mg Subst. zu } 1,0125 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{15} = +0,76^\circ \pm 0,02^\circ.$$

Dieser Wert stimmt ausgezeichnet mit dem für authentisches A-Triacetat gefundenen überein<sup>1)</sup>. Zur Analyse wurde das von der Drehung regenerierte und umkrystallisierte Material (Smp. 217 bis  $219^\circ$ ) im Hochvakuum bei  $80^\circ$  getrocknet.

$$\begin{array}{ll} 3,270 \text{ mg Subst. gaben } 7,84 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 2,48 \text{ mg H}_2\text{O (E.T.H.)} \\ \text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_8 \quad (494,61) \quad \text{Ber. C } 65,56 \quad \text{H } 8,56\% \\ \text{Gef. , , } 65,43 \quad , , 8,49\% \end{array}$$

Die vereinigten Mutterlaugen (42 mg) wurden über  $1,4 \text{ g}$  Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je  $4\text{---}5 \text{ cm}^3$  Lösungsmittel.

Die ersten 3 mit absolutem Benzol eluierten Fraktionen gaben nur Spuren Rückstand.

Die Fraktionen 4 (99 % Benzol + 1 % Äther) -- 10 (90 % Benzol + 10 % Äther) lieferten ziemlich viel Syrup, aus dem sich beim Stehen in Äther-Petroläther Drusen abschieden, die verschiedene Schmelzpunkte von  $150\text{---}170^\circ$  und  $180\text{---}190^\circ$  zeigten. Durch Umkrystallisieren liess sich eine sehr kleine Menge vom Smp.  $180\text{---}192^\circ$  abtrennen, doch war es nicht möglich, den Schmelzpunkt noch höher zu bringen. Zur Prüfung, ob evtl. ein Gemisch von Stoffen vorliegt, das geringeren Sauerstoffgehalt besitzt als A-Triacetat, wurden die vereinigten Krystalle, auch die tiefer schmelzenden, im Hochvakuum bei  $0,01 \text{ mm}$  und  $185\text{---}200^\circ$  sublimiert (A-Triacetat subli-

<sup>1)</sup> C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. **23**, 729 (1940) fanden  $[\alpha]_D^{18} = +74^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 2,340$  in Aceton).

miert erst höher), das Sublimat mit wenig Petroläther gewaschen und im Hochvakuum nochmals bei 50° getrocknet. Es schmolz dann bei 170—190°.

1,529 mg Subst. gaben 3,81 mg CO<sub>2</sub> und 1,20 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)  
 $C_{27}H_{42}O_7$  (478,61)      Ber. C 67,75    H 8,85%  
                               Gef. „ 68,00 „ 8,78%

Die Werte stimmen also auf die angegebene Formel, die um ein Sauerstoff ärmer ist als A-Triacetat. Hingegen kann nicht entschieden werden, ob es sich um ein Isomerengemisch oder um ein Gemisch von Stoffen verschiedenen Sauerstoffgehalts handelt. Die Analyse bestätigt jedoch, dass bei der Hydrierung teilweise Sauerstoff herausreduziert wird, woraus sich der zu hohe Wasserstoffverbrauch ergibt. Dies ist auffallend, da A-Triacetat, wie wir uns in einem besonderen Versuch überzeugen konnten, unter den angewandten Hydrierungsbedingungen völlig beständig ist.

Die Fraktionen 11 (85 % Benzol + 15 % Äther) — 14 (55 % Benzol + 45 % Äther) gaben keine Krystalle.

Die Fraktionen 15 (35 % Benzol + 65 % Äther) — 19 (100 % Äther) gaben wenig unscharf bei 150—165° schmelzende Krystalle, die nach Reinigung aus Aceton-Äther bei 202—213° schmolzen.

Die Fraktionen 20 (99 % Äther + 1 % Aceton) — 25 (70 % Äther + 30 % Aceton) gaben Drusen vom Smp. 190—205° und nach mehrmaligem Umkristallisieren 2 mg Drusen vom Smp. 217—219°, die mit A-Triacetat identisch waren und mit den durch direkte Krystallisation erhaltenen 8 mg vereinigt wurden.

Eine weitere Fraktion 26 (40 % Äther + 60 % Aceton) gab noch eine kleine Menge feiner Nadeln vom Smp. 209—212°, die bei der Mischprobe mit A-Triacetat eine Schmelzpunktserniedrigung zeigten.

Die weiteren mit Äther-Aceton sowie mit Chloroform eluierten Anteile lieferten nur noch eine Spur Syrup.

Die Mikroanalysen wurden teils von Herrn Dr. A. Schoeller, Berlin, teils im mikroanalytischen Laboratorium der E.T.H., Zürich (Leitung H. Gubser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.