

100,03 mg Substanz werden in wenig Alkohol und Wasser gelöst und mit 0,1-n. NaOH titriert (Phenolphthalein). Verbraucht 11,0 cm³ 0,1-n. NaOH.

$\frac{1}{2}$ C₉H₁₂O₄ Äquiv.-Gew. Ber. 92,1 Gef. 90,9.

Äthoxalyl-önanthsäure-ester, der längere Zeit gestanden hat, löst sich in der Kaliumcarbonatlösung nicht mehr auf. Das unlösliche Produkt gibt mit alkoholischer Eisen(III)-chloridlösung keine Färbung. Es liegt das CO-Abspaltungsprodukt des Äthoxalylesters, d. h. der n-Amyl-malonsäure-diäthylester vor. Bei der Verseifung mit alkoholischem Alkali erhält man die n-Amyl-malonsäure vom Smp. 80°¹⁾, mit konz. Ammoniaklösung das Diamin vom Smp. 203–204°²⁾.

Alkoholyse zum α -Keto-caprylsäure-ester. 1,3 g Anhydrid werden mit 1 cm³ absolutem Äthylalkohol und 4 Tropfen Pyridin 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsprodukt wird in Äther aufgenommen und neutral gewaschen. Man erhält 1,11 g α -Keto-caprylsäure-äthylester vom Sdp. 100–103° (11 mm) entspr. 84% Ausbeute.

$d_4^{16} = 0,9561$; $n_D^{16} = 1,4355$; M_D Ber. C₁₀H₁₈O₃ 50,04 Gef. 50,77

200 mg des Esters werden ins Semicarbazon verwandelt. Nach 2-maligem Umkrystallisieren aus wässrigem Methylalkohol schmilzt das Produkt bei 104–105°. Bei der Mischprobe mit einem Kontrollpräparat vom Smp. 107° tritt keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Beim Liegen an der Luft sinkt der Schmelzpunkt nach einem Tag um ca. 5°. Der α -Keto-caprylsäure-äthylester des Kontrollpräparates wurde aus n-Hexyl-acetessigester und Nitrosylschwefelsäure³⁾ hergestellt und das Semicarbazon durch Analyse kontrolliert.

3,606 mg Subst. gaben 7,201 mg CO₂ und 2,730 mg H₂O

C₁₁H₂₁O₃N₃ (aus C₁₀H₁₈O₃) Ber. C 54,30 H 8,70%
Gef. „ 54,50 „ 8,47%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Organisch-Chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

172. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

77. Mitteilung⁴⁾

Ätiocholen-(11)-ol-(3 α)-on-(17)

von A. Lardon und S. Lieberman⁵⁾

(28. VI. 47.)

Aus pathologischem menschlichem Harn konnten bisher zwei einfach ungesättigte Androsteron-Abkömmlinge isoliert werden⁶⁾⁷⁾. Das von Dorfman u. Mitarb. aufgefundene Produkt⁷⁾ liess sich auch

¹⁾ Nach Hell und Schüle, B. **18**, 626 (1885), Smp. 82°.

²⁾ Nach Dox und Jones, Am. Soc. **50**, 2034 (1928), Smp. 206°.

³⁾ Bouveault und Locquin, Bl. [3] **31**, 1055 (1904).

⁴⁾ 76. Mitt. R. Jeanloz, J. von Euv, Helv. **30**, 801 (1947).

⁵⁾ S. L. dankt dem Memorial Hospital, New York, dass es ihm ermöglichte, diese Arbeit in Basel auszuführen.

⁶⁾ J. K. Wolfe, L. F. Fieser, H. B. Friedgood, Am. Soc. **63**, 582 (1941).

⁷⁾ R. I. Dorfman, S. Schiller, E. L. Sevringhaus, Endocrinology **37**, 262 (1945).

künstlich aus Androstan-diol-(3 α ,11 β)-on-(17), das ebenfalls aus pathologischem¹⁾²⁾ und normalem³⁾ Harn isoliert wurde, durch Dehydratisierung bereiten¹⁾⁴⁾. Seine Konstitution als Androsten-(9)-ol-(3 α)-on-(17) ist weitgehend gesichert, da es bei der Dehydrierung dasselbe einfach ungesättigte Diketon liefert⁴⁾ wie das epimere Androsten-(9)-ol-((3 β)-on-(17)⁴⁾, in dem die Lage der Doppelbindung in 9,11-Stellung kürzlich bewiesen wurde⁵⁾. Wahrscheinlich entsteht es erst bei der üblichen Hydrolyse des Harns mit Säure. Das von Wolfe u. Mitarb.⁶⁾ isolierte isomere Produkt enthält die Doppelbindung möglicherweise in 11-Stellung, doch ist bisher noch nicht bewiesen, dass sie sich überhaupt im Ring C befindet. Nach Untersuchungen im *Memorial Hospital*, New York, enthalten die aus menschlichem Harn in üblicher Weise abgetrennten Steroid-Ketone wahrscheinlich auch ungesättigte Ätiocholan-Derivate, die den zwei oben genannten Androstan-Derivaten analog gebaut sind und denen eine gewisse diagnostische Bedeutung zukommt⁷⁾. Da sich bekanntlich Steroide mit einer Doppelbindung in 9- und 11-Stellung voneinander und von den entsprechenden gesättigten Stoffen oft nur schwer unterscheiden lassen, war es erwünscht, die beiden in 9- und 11-Stellung ungesättigten Ätiocholan-ol-(3 α)-one-(17) teilsynthetisch herzustellen. Im folgenden wird die Bereitung des letztgenannten (IV) beschrieben.

Als Ausgangsmaterial diente das bekannte Mono-acetat (II)¹⁰⁾. Dieses erhält man in guter Ausbeute, wenn man das Ätiocholan-diol-(3 α ,12 α)-on-(17)⁸⁾ 16 Stunden mit 1-proz. HCl-Eisessig-Lösung bei 18° stehen lässt, während bei längerer Einwirkung steigende Mengen an Diacetat von (I)⁹⁾ entstehen. Die Wasserabspaltung der 12-ständigen HO-Gruppe in (II) erfolgte nach der bewährten Tosylat-Methode¹⁰⁾¹¹⁾, indem (II) zunächst in das krystallisierte Tosylat (III) übergeführt wurde, das in guter Ausbeute erhalten werden konnte.

¹⁾ H. L. Mason, E. J. Kepler, J. Biol. Chem. **161**, 235 (1945).

²⁾ H. Miller, R. I. Dorfman, E. L. Sevringhaus, Endocrinology **38**, 19 (1946).

³⁾ H. L. Mason, J. Biol. Chem. **162**, 745 (1946).

⁴⁾ C. W. Shoppee, Soc. **1946**, 1134.

⁵⁾ H. Reich, A. Lardon, Helv. **30**, 329 (1947).

⁶⁾ J. K. Wolfe, L. F. Fieser, H. B. Friedgood, Am. Soc. **63**, 582 (1941).

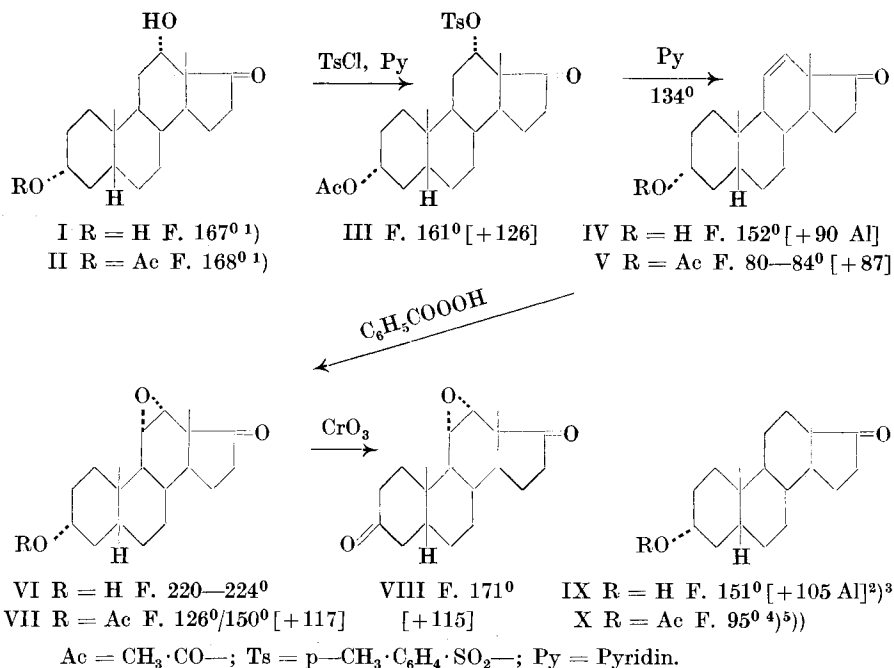
⁷⁾ Anm. bei der Korrektur: Siehe die soeben erschienene Notiz von K. Dobriner, S. Lieberman, L. Hariton, L. H. Sarett, C. P. Roads, J. Biol. Chem. **169**, 221 (1947) über die Isolierung von Ätiocholen-(9)-ol-(3 α)-on-(17).

⁸⁾ H. Reich, Helv. **28**, 863 (1945).

⁹⁾ H. Reich, T. Reichstein, Helv. **26**, 2102 (1943).

¹⁰⁾ J. von Euw, T. Reichstein, Helv. **29**, 654 (1946).

¹¹⁾ Ein Versuch zur Wasserabspaltung aus Ätiocholan-ol-(12 α)-dion-(3,17) durch thermische Zersetzung seines Anthrachinon-carbonsäure-esters war früher erfolglos verlaufen⁸⁾.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Angabe = Chloroform, Al = Alkohol.

Beim Erhitzen mit Pyridin lieferte (III) ein krystallisiertes ungesättigtes Acetat (V), das sich leicht zum freien Oxyketon (IV) verseifen liess. Da die Tosylat-Methode bisher ausschliesslich Steroide mit einer Doppelbindung in 11,12-Stellung lieferte, glauben wir, dass die Formeln (IV) und (V) gut begründet sind. (IV) gab bei der Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden gesättigten Ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17) (IX) keine merkliche Schmelzpunktserniedrigung, zeigte aber eine um etwa 15° niedrigere spez. Drehung als dieses. Zur Charakterisierung von im Ring C ungesättigten Steroiden haben sich bisher die Oxyde besonders bewährt⁶⁾, weshalb auch (V) in das gut

¹⁾ H. Reich, Helv. **28**, 863 (1945).

²⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Eichenberger, Helv. **17**, 1395 (1934).

³⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, Helv. **18**, 668 (1935).

⁴⁾ G. C. Butler, G. F. Marrian, J. Biol. Chem. **124**, 237 (1938).

⁵⁾ J. K. Wolfe, L. F. Fieser, H. B. Friedgood, Am. Soc. **63**, 582 (1941).

⁶⁾ C. W. Shoppee, Helv. **30**, 766 (1947) beschreibt die Überführung von Androstendion-(9)-dion-(3,17) ins Oxyd. Im allgemeinen sollte die Einwirkung von Benzopersäure beim Arbeiten mit kleinen Mengen besser in einer Stufe erfolgen, in der sich in 3-Stellung noch eine Acyloxy-Gruppe befindet, da 3-Keto-Steroide von Benzopersäure sehr leicht in Lactone übergeführt werden. Vgl. V. Burckhardt, T. Reichstein, Helv. **25**, 821 (1942).

krystallisierte Oxyd (VII) übergeführt und dieses zum freien Oxyketo-oxyd (VI) verseift wurde. (VI) gab bei der Dehydrierung mit CrO_3 das Oxydo-diketon (VIII), das ebenfalls gut krystallisierte. Die Oxyde (VII) und (VIII) dürften zum Vergleich mit Naturprodukten besonders geeignet sein.

Wir danken Herrn Prof. T. Reichstein verbindlichst für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse sowie Herrn Dr. H. Reich für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts. A. L. dankt der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, und der Haco-Gesellschaft, Gümligen, für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.

Ätiocholan-diol-(3 α , 12 α)-on-(17)-mono-acetat-(3) (II)¹).

178 mg Ätiocholan-diol-(3 α , 12 α)-on-(17) (I)¹ (Rohprodukt aus der alkalischen Verseifung des Diacetats von (I)) wurden in 1,5 cm³ einer 1-proz. Lösung von HCl-Gas in Eisessig gelöst und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Ätherlösung mit Wasser, verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das 203 mg wiegende Rohprodukt wurde über 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Die ersten mit reinem Benzol eluierten Fraktionen lieferten ganz wenig Ätiocholan-diol-(3 α , 12 α)-on-(17)-diacetat vom Smp. 161–162°²). Weitere mit reinem Benzol sowie mit Benzol-Äther-Gemischen eluierte Fraktionen gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 71 mg Nadeln vom Smp. 165–168°, die sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als das Mono-acetat (II)¹ erwiesen. Mit Äther-Methanol (9:1) wurde noch etwas Ausgangsmaterial (I) eluiert, das nochmals genau wie oben beschrieben durch Einwirkung einer 1-proz. HCl-Eisessig-Lösung acetyliert wurde. Das Reaktionsprodukt wurde zusammen mit der Mutterlauge des obigen Mono-acetats (II) chromatographiert und lieferte noch 27 mg Mono-acetat (II) vom Smp. 165–168°. Die Ausbeute betrug somit 98 mg = 48,5%. Die letzten Mutterlaugen wurden noch durch energische Acetylierung auf Diacetat verarbeitet.

Ein weiterer Versuch mit 105 mg (I), bei dem 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurde, lieferte 61 mg Diacetat und 46 mg Mono-acetat (II).

Ätiocholan-diol-(3 α , 12 α)-on-(17)-acetat-(3)-tosylat-(12) (III).

118 mg Mono-acetat (II) vom Smp. 165–168° wurden mit 1 cm³ absolutem Pyridin und 240 mg Tosylchlorid in eine evakuierte Ampulle eingeschmolzen und 10 Tage bei 37° stehen gelassen. Dann wurde etwas Eis zugegeben und nochmals 2 Stunden stehen gelassen, hierauf mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösungen mit verdünnter HCl, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es hinterblieben 171 mg Rückstand, der aus Äther-Petroläther umkrystallisiert 134 mg Blättchen vom Smp. 161 bis 163° lieferte, die das Tosylat (III) darstellten. Die 37 mg wiegende Mutterlauge wurde über 1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit reinem Benzol und Benzol-Äther (9:1) eluierten Fraktionen gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther noch 18 mg Tosylat (III) vom Smp. 161–163°. Die Ausbeute betrug insgesamt 152 mg = 89%. Das Tosylat zeigte nach Trocknung im Hochvakuum bei 20° eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{13} = +125,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,135$ in Chloroform).

11,412 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +1,43^\circ \pm 0,02^\circ$

¹) H. Reich, Helv. **28**, 863 (1945).

²) H. Reich, T. Reichstein, Helv. **26**, 2102 (1943).

Zur Analyse wurde eine Probe 3 Stunden im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

3,691 mg Subst. gaben 9,06 mg CO₂ und 2,52 mg H₂O

C ₂₈ H ₃₈ O ₆ S (502,58)	Ber. C 66,90	H 7,62%
	Gef. „ 66,99	„ 7,64%

Die bei der Chromatographie durch Elution mit Äther erhaltenen Fraktionen gaben noch 11 mg unverändertes Ausgangsmaterial (II).

Ätiocholen-(11)-ol-(3 α)-on-(17)-acetat (V).

145 mg Tosylat (III) vom Smp. 161–163° wurden mit 1,5 cm³ absolutem Pyridin in ein evakuiertes Bombenrohr eingeschmolzen und 2 Tage auf 134° (Xylolbad) erhitzt. Nach Zusatz von Äther wurde mit verdünnter HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das 103 mg wiegende Rohprodukt wurde über 3 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol-Gemischen eluierten Fraktionen gaben nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 58 mg Nadeln vom Smp. 78–84°. Durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser stieg der Smp. auf 80–84°. Die spez. Drehung betrug nach Trocknung im Hochvakuum bei 20°: $[\alpha]_D^{17} = +87,3^\circ \pm 6^\circ$ ($c = 0,343$ in Chloroform).

3,449 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,30^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde eine Probe unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum kurz geschmolzen.

3,622 mg Subst. gaben 10,07 mg CO₂ und 3,11 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₀ O ₃ (330,45)	Ber. C 76,32	H 9,15%
	Gef. „ 75,87	„ 9,61%

Die bei der Chromatographie mit reinem Benzol eluierten Fraktionen lieferten noch 20 mg unverändertes Tosylat (III).

Ätiocholen-(11)-ol-(3 α)-on-(17) (IV).

12 mg Ätiocholen-(11)-ol-(3 α)-on-(17)-acetat (V) vom Smp. 80–84° wurden in 1,5 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 20 mg Kaliumcarbonat in 0,3 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand zweimal mit Äther ausgezogen und die Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der 13 mg wiegende ölige Rückstand wurde über 500 mg Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Äther (3:1) eluierten Fraktionen wogen 7 mg und gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 6 mg Stäbchen vom Smp. 152–154°. Bei der Mischprobe mit Ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17) (IX) vom Doppelschmelzpunkt 144°/150–154°¹⁾ wurde keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = +90,3^\circ \pm 6^\circ$ ($c = 0,365$ in Alkohol)²⁾.

3,674 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,33^\circ \pm 0,02^\circ$

11 α , 12 α -Oxydo-ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17)-acetat (VII).

51 mg Ätiocholen-(11)-ol-(3 α)-on-(17)-acetat (V) vom Smp. 78–84° wurden in 1 cm³ Chloroform gelöst, mit der Lösung von 59,4 mg (= 2,78 Mol) Benzopersäure in 0,9 cm³ Chloroform versetzt und 20 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen

¹⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Eichenberger, *Helv.* **17**, 1395 (1934).

²⁾ Ruzicka und Mitarb.³⁾ geben für Ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17) (IX) eine spez. Drehung von +104,7° und +103° (in Alkohol) an, Hirschmann⁴⁾ eine solche von +109° (in Alkohol).

³⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, *Helv.* **18**, 668 (1935).

⁴⁾ H. Hirschmann, *J. Biol. Chem.* **136**, 483 (1940).

gelassen. Nach Zugabe von 0,5 g KJ in 4 cm³ Wasser und 0,5 cm³ Eisessig wurde mit 0,1-n-Thiosulfatlösung titriert und ein Verbrauch von 24,9 mg = 1,12 Mol Benzopersäure festgestellt. Dann wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Chloroform-Ätherlösung mit Thiosulfatlösung, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der 53 mg wiegende Rückstand wurde über 1,5 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol-Gemischen und reinem Benzol eluierten Fraktionen wogen 46 mg und gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther dicke Nadeln vom Smp. 126–135°. Die Schmelze erstarrte zu feinen Nadeln, die dann endgültig bei 150–154° schmolzen. Die spez. Drehung betrug nach Trocknung im Hochvakuum bei 60°: $[\alpha]_D^{15} = +116,8^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,659$ in Chloroform).

6,652 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,77^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

Zur Analyse wurde eine Probe unmittelbar vor der Verbrennung kurz im Hochvakuum geschmolzen.

3,708 mg Subst. gaben 9,91 mg CO₂ und 2,86 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₀ O ₄ (346,45)	Ber. C 72,80	H 8,73%
	Gef. „ 72,93	„ 8,63%

11 α , 12 α -Oxydo-ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17) (VI).

37 mg 11 α , 12 α -Oxydo-ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17)-acetat (VII) vom Smp. 126°/150–154° wurden mit 40 mg KOH in 2 cm³ Methanol gelöst und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser wurde CO₂ eingeleitet, das Methanol im Vakuum entfernt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Ätherlösungen wurden eingedampft und gaben 32 mg Rückstand. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther wurden 25 mg lange Nadeln vom Smp. 220–224° (VI) erhalten.

11 α , 12 α -Oxydo-ätiocholan-dion-(3, 17) (VIII).

28 mg 11 α , 12 α -Oxydo-ätiocholan-ol-(3 α)-on-(17) (VI) (Rohprodukt) wurden in 0,5 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und 6 Stunden bei 18° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft, mit Wasser und Äther aufgenommen und die Ätherlösungen mit verdünnter H₂SO₄, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 16 mg Krystalle vom Smp. 168–174°. Durch noch zweimaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther wurden Blättchen vom Smp. 171–175° erhalten. Die spez. Drehung betrug nach Trocknung im Hochvakuum bei 60°: $[\alpha]_D^{16} = +115,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,521$ in Chloroform).

5,262 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,60^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

Zur Analyse wurde eine Probe 2 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,698 mg Subst. gaben 10,22 mg CO₂ und 2,84 mg H₂O

C ₁₉ H ₂₆ O ₃ (302,40)	Ber. C 75,46	H 8,67%
	Gef. „ 75,42	„ 8,59%

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium von F. Weiser, Basel, ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.