

133. Über Bestandteile der Nebennierenrinde

(18. Mitteilung)¹⁾.

Die Verseifung von Estern reduzierender Ketole mit schwachen Alkalien

von T. Reichstein und J. v. Euw.

(23.VIII. 38.)

Die biologisch wirksamen Bestandteile aus Nebennierenextrakten sowie verwandte Begleitstoffe enthalten als charakteristische Seitenkette eine Ketolgruppierung, die einem der zwei folgenden Typen ($R = H$) entspricht:



In beiden Typen lässt sich die primäre Hydroxylgruppe schon unter milden Bedingungen sehr leicht verestern. Trotzdem solche Ester ($R = \text{Acyl}$) natürlich auch entsprechend leicht verseifbar sind, bot die praktische Durchführung dieser Verseifung erhebliche Schwierigkeiten, besonders da solche Ketolgruppierungen gegen starke Alkalien empfindlich sind. Die Ester der Stoffgruppe vom Typus (I) lassen sich zwar durch Erwärmen mit alkoholischer Salzsäure relativ gut verseifen. Eine solche saure Verseifung wurde beispielsweise bei der Herstellung des Desoxy-corticosterons²⁾ und Dehydro-corticosterons³⁾ aus den entsprechenden Acetaten beschrieben. Bei den Estern der Stoffgruppe (II) ist jedoch dieses Verfahren nicht angezeigt, da es mit weiteren Zersetzungen und Umlagerungen verbunden sein kann.

Aus vielen Gründen war es erwünscht, eine Verseifungsmethode zu besitzen, die für die Spaltung der Ester der Stoffgruppen vom Typus (I) und (II) gleich gut brauchbar ist. Es wurde gefunden, dass schwache Alkalien, wie Kaliumbicarbonat in wässrig-methanolischer Lösung, in manchen Fällen auch noch das stärker alkalische Kaliumcarbonat für diesen Zweck gut geeignet sind. Ist nur die primäre Hydroxylgruppe in 21-Stellung verestert, so genügt zur Verseifung schon die Behandlung mit Kaliumbicarbonat bei Zimmertemperatur während 24—48 Stunden oder während 1 Stunde bei Siedetemperatur. Ist gleichzeitig noch eine Acetylgruppe in 3-Stellung vorhanden (vgl. beispielsweise die Substanz P in der folgenden Mitteilung), so

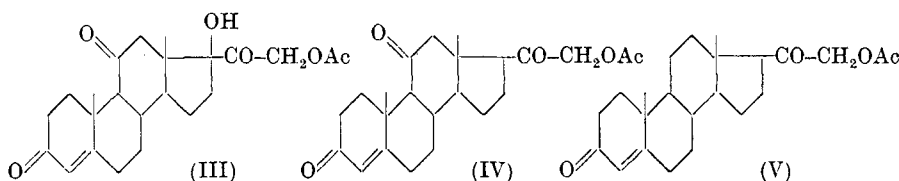
¹⁾ 17. Mitteilung: *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 546 (1938).*

²⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 1164 (1937).*

³⁾ *T. Reichstein, Helv. 20, 953 (1937).*

wird diese unter solchen Bedingungen meist nicht ganz vollständig abgespalten. Es gelingt jedoch unter etwas energischeren Bedingungen auch diese noch abzulösen, ohne die Ketolgruppierung zu zerstören. Das Verfahren wurde bisher nur für die Spaltung aliphatischer Ester verwendet.

Mit dieser Methode liessen sich beispielsweise das Acetat der Substanz F. a. (III), das Dehydro-corticosteron-acetat (IV) und das Desoxy-corticosteron-acetat (V) und andere Vertreter dieser Stoffgruppe zu den freien Oxyketonen verseifen. Die Ausbeuten sind auch bei (IV) und (V), bei denen die saure Verseifung möglich ist, besser als bei Verwendung dieser.



Die Möglichkeit, auf diese Weise aus den Estern wieder leicht zu den freien Ketolen zu gelangen, ist besonders für Isolierungen sehr nützlich. Sie erlaubt beispielsweise die Anwendung der bekannten Bernsteinsäure-halbester-methode zur Trennung von Oxyketonen mit reaktiver Hydroxylgruppe von anderen Ketonen, die eine solche nicht besitzen. Ferner ermöglicht sie die Anwendung chromatographischer Trennungsmethoden, welche mit den Acetaten meist bessere Resultate geben als mit den freien Oxyketonen.

Experimenteller Teil.

Verseifung des Acetates von Substanz F. a. (III).

8 mg Acetat der Substanz F. a. (III)¹⁾ vom Smp. 239—240° korr. wurden in 1,5 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 8 mg Kaliumbicarbonat versetzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die farblose Lösung wurde im Vakuum stark eingengt und das ausgeschiedene Harz mit wenig Chloroform gelöst und hierauf mit viel Äther ausgeschüttelt. Die mit Sulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft. Der Rückstand krystallisierte nach Zusatz von einem Tropfen Aceton und schmolz roh bei 200—217° korr. Durch Umkrystallisieren aus wenig absolutem Alkohol wurden farblose Krystalle (Rhomben und Büschel von flachen Spiessen) erhalten, die bei 213—217° korr. schmolzen. Sie gaben mit der ebenso krystallisierenden Substanz F. a. bei der Mischprobe keine Depression und zeigten die grüne Fluoreszenzreaktion mit konz. Schwefelsäure.

¹⁾ T. Reichstein, Helv. **20**, 978 (1937).

Verseifung von Dehydro-corticosteron-acetat (IV).

35 mg Dehydro-corticosteron-acetat (IV)¹⁾ wurden in 2,5 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 35 mg Kaliumbicarbonat in 0,65 cm³ Wasser vermischt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum stark eingeengt, worauf bald Krystallisation eintrat. Das Rohprodukt schmolz bereits richtig bei 173—180° korr. Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther schmolzen die farblosen Krystalle bei 174—180° genau wie das früher durch saure Verseifung erhaltene sowie das von *Kendall* übersandte Präparat (Compound A) und gaben mit diesem keine Depression, während mit dem Acetat (IV) eine starke Depression erhalten wurde.

Verseifung von Desoxy-corticosteron-acetat (V).

a) mit Kaliumbicarbonat bei Zimmertemperatur. 25 mg Desoxy-corticosteron-acetat (V)²⁾ vom Smp. 160° korr. wurden in 2,5 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 25 mg Kaliumbicarbonat in 0,7 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum stark eingeengt und mit freiem Desoxy-corticosteron geimpft. Nach mehrstündigem Stehen wurden die Krystalle abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Sie schmolzen bei 133—139°. Aus einer Spur Aceton unter Zusatz von Äther wurden schöne Krystalle erhalten, die bei 140—143° schmolzen. Die Mischprobe mit Desoxy-corticosteron gab keine Depression. Die Äther-Mutterlaugen enthielten kleine Mengen unverseiften Acetats.

b) mit Kaliumbicarbonat in der Hitze. 2 g fast reines Acetat (V) vom Smp. 156—159° korr. wurden in 150 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 2 g Kaliumbicarbonat in 40 cm³ Wasser versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Die leicht gelbliche Lösung wurde im Vakuum völlig von Methanol befreit und der Rückstand zuerst mit 500 cm³, dann noch zweimal mit je 300 cm³ frisch destilliertem Äther ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit etwas Sodalösung, dann zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wurde mit 1 cm³ Aceton verflüssigt und mit 5 cm³ absolutem Äther versetzt, wobei sofort Krystallisation einsetzte. Nach 2-stündigem Stehen wurden 845 mg fast farbloser Krystalle erhalten, die bei 140—142° schmolzen, also sehr rein waren. Die Mutterlauge wurde im Molekularkolben bei 190° Badtemperatur und 0,01 mm Druck destilliert und das Destillat wie oben aus sehr wenig Aceton unter Ätherzusatz umkrystallisiert. Es wurden nochmals 755 mg reiner Krystalle vom Smp. 140—142° erhalten, zusammen also 1,6 g.

¹⁾ *T. Reichstein, Helv. 20, 953 (1937).*

²⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 1164 (1937).*

c) mit Kaliumcarbonat in der Kälte. 50 mg Desoxycorticosteron-acetat wurden in 2,5 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 25 mg Kaliumcarbonat in 0,25 cm³ Wasser vermischt 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung geschah wie bei b) und gab reines Desoxy-corticosteron.

Verseifung von trans-Dehydro-androsteron-acetat.

Diese Versuche wurden durchgeführt, um zu prüfen, welche Bedingungen nötig sind, um die in 3-Stellung befindliche Acetylgruppe abzulösen, da viele Substanzen aus Nebennieren auch in 3-Stellung eine Hydroxylgruppe in derselben räumlichen Lage besitzen.

a) Mit Pottasche bei Zimmertemperatur. 100 mg trans-Dehydro-androsteron-acetat vom Smp. 168—170° korr. wurden in 3 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 50 mg Kaliumcarbonat in 0,5 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab sofort reines trans-Dehydro-androsteron, das bei 144—146° korr. schmolz wieder erstarrte und bei 150° definitiv schmolz. Die Mischprobe gab keine Depression. Es war somit praktisch völlige Verseifung eingetreten.

b) Derselbe Ansatz wie oben, jedoch mit der halben Menge Pottasche gab ebenfalls vollständige Verseifung.

c) Mit Kaliumbicarbonat in der Hitze. 100 mg trans-Dehydro-androsteron-acetat wurden in 3 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 100 mg Kaliumbicarbonat in 1,5 cm³ Wasser versetzt und 1½ Stunden unter Rückfluss gekocht. Das im ersten Moment teilweise ausgefallene Material ging dabei innerhalb 5 Minuten wieder in Lösung. Die Aufarbeitung gab reines Oxyketon, es war somit völlige Verseifung resp. Umesterung eingetreten.

d) Mit Kaliumbicarbonat im Kohlendioxydstrom in der Hitze. 100 mg trans-Dehydro-androsteron-acetat wurden in 5 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 100 mg Kaliumbicarbonat in 2 cm³ Wasser versetzt und unter ständigem leichtem Durchleiten von Kohlendioxyd 1¾ Stunden unter Rückfluss gekocht. Völlige Lösung der zuerst ausgefallenen Krystalle trat erst nach ¾ Stunden ein. Die Aufarbeitung ergab ein bei 110—118° schmelzendes Gemisch, es war also nur teilweise Verseifung eingetreten.

e) Mit Kaliumbicarbonat bei Zimmertemperatur. 100 mg Acetat wurden in 10 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 100 mg Kaliumbicarbonat in 2,5 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung ergab ein bei 110—120° schmelzendes Gemisch, es war also nach dieser Zeit noch keine völlige Verseifung eingetreten.

f) Derselbe Ansatz wie bei e) wurde 45 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab reines Oxyketon. Es ist also nach dieser Zeit praktisch völlige Verseifung eingetreten.

Die mildesten Bedingungen unter denen die 3-ständige Acetoxygruppe praktisch vollständig verseift wird, sind also die unter c) und unter f) angewandten.

Laboratorium für organische Chemie,
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

134. Über Bestandteile der Nebennierenrinde

(19. Mitteilung)¹⁾.

Die Substanzen N und P, sowie Beobachtungen zur Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17

von T. Reichstein und K. Gätzi.

(23. VIII. 38.)

In einer früheren Mitteilung²⁾ wurde unter anderem die Substanz N sowie ein reduzierendes Acetat vom Smp. 210° korr. beschrieben. Da es sich inzwischen herausgestellt hat, dass dem letzteren wirklich eine neue Substanz zugrunde liegt, so soll diese eine besondere Bezeichnung erhalten, und zwar wird sie Substanz P genannt. In vorliegender Arbeit werden die Konstitutionen von N und P mitgeteilt sowie einige Beobachtungen betreffend die Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17 angegeben.

Die Konstitution von Substanz N brauchte nicht besonders ermittelt zu werden. Der Stoff erwies sich nämlich, wie bereits vermutet, als identisch mit Compound H von *Kendall* und Mitarbeitern³⁾, für den diese Autoren die Formel I bewiesen haben⁴⁾. Durch eine von Dr. *Kendall* freundlichst zur Verfügung gestellte Probe konnte die Identität sichergestellt werden. Da die Mischproben bei freien Alkoholen in dieser Reihe nicht immer zuverlässig sind, so wurden beide Präparate in die bei 149° korr. schmelzenden Diacetate (II) übergeführt, die sich als identisch erwiesen. Eine weitere Bestätigung

¹⁾ 18. Mitteilung: T. Reichstein, J. v. Euw, Helv. **21**, 1181 (1938).

²⁾ M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 546 (1938).

³⁾ H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **120**, 719 (1937).

⁴⁾ Selbstverständlich beschränkt sich der Konstitutionsbeweis auch hier nur auf die Verknüpfung mit den anderen bekannten Stoffen dieser Reihe und auf die Festlegung der Funktion der Sauerstoffatome. Ein sicherer Beweis dafür, dass die in 3- und 11-Stellung formulierte Hydroxyl- und Keto-gruppe sich wirklich dort befindet, liegt nicht vor.