

206. Adolf Butenandt und Edgar Hausmann: Über die Oxydation des Cholesterins mit seleniger Säure.

[Aus dem Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule, Danzig-Langfuhr, und d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 21. April 1937.)

Im Rahmen unserer Untersuchungen über die physiologische Spezifität innerhalb der Gruppe der Keimdrüsenhormone haben wir uns seit längerer Zeit bemüht, sauerstoffreichere Derivate der Sexualhormone darzustellen und ihre physiologische Wirkung zu prüfen¹⁾. Im Verlauf dieser Arbeiten haben wir seit dem letzten Sommer das Verhalten des Cholesterins gegen selenige Säure als Oxydationsmittel studiert in der Hoffnung, eine einfache Methode zur Einführung einer Hydroxylgruppe in den Ring A oder B der Steroide zu finden²⁾. Cholesterin diente uns nur als Modells substanz in der Absicht, die hier gewonnenen Ergebnisse auf die Vertreter der Keimdrüsenhormone zu übertragen.

Wir fanden, daß sich in Cholesterin (oder Cholesterin-acetat) bei der Oxydation mit seleniger Säure leicht eine Hydroxylgruppe einführen läßt; die Reaktion führt zur Entstehung von zwei isomeren Cholestendiolen der Formel $C_{27}H_{46}O_2$.

In einer soeben erschienenen Arbeit berichten O. Rosenheim und W. W. Starling in Fortführung ihrer früheren Untersuchungen³⁾ über die gleichen Befunde³⁾. Die ausführlichen experimentellen Angaben der englischen Autoren stimmen mit den Ergebnissen unserer Arbeit weitgehend überein; jedoch haben wir noch einige weitere Versuche durchgeführt, die einen näheren Einblick in die Konstitution der in Frage stehenden Diole gestatten. Wir beschreiben im folgenden kurz diejenigen Befunde, durch die die Angaben der englischen Autoren ergänzt werden.

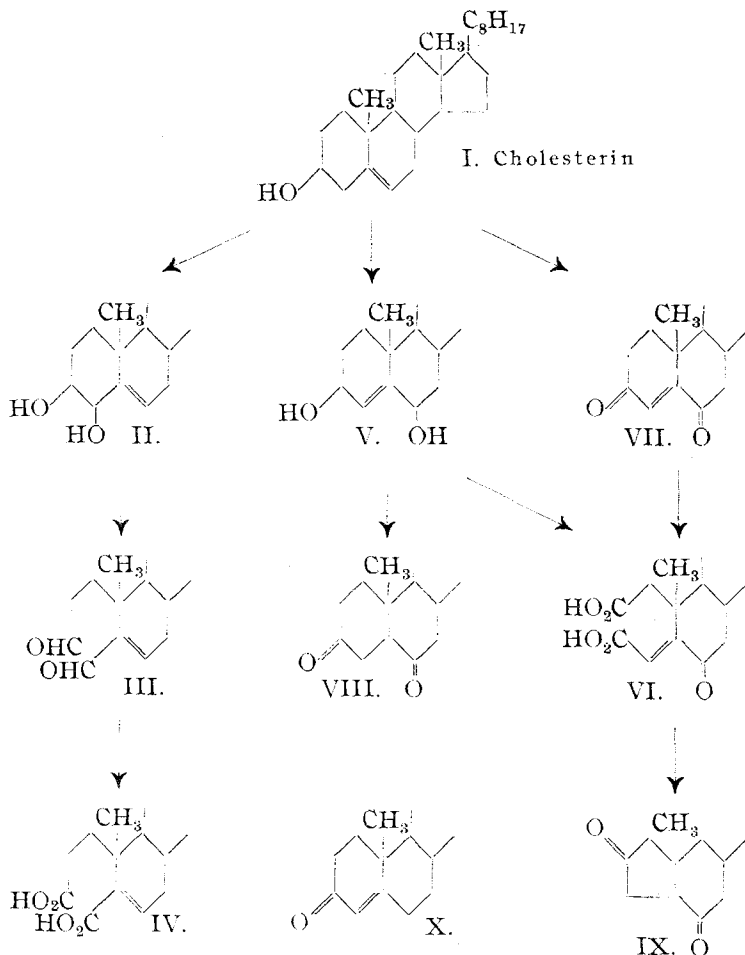
Wir haben die Oxydation des Cholesterins mit Selendioxyd bevorzugt in Gegenwart von Essigsäure-anhydrid durchgeführt. Bei dieser Versuchsanordnung entstehen die zwei isomeren Cholestendiole in Gestalt ihrer Diacetate mit den Schmp. 165—166° bzw. 131—133° in etwa gleicher Ausbeute. Durch Verseifung kann man aus den Diacetaten die Diole in Freiheit setzen: Das bei 165° schmelzende Diacetat geht bei der Verseifung in ein Cholestendiol vom Schmp. 174° (unkorr.) über, das aus Alkohol in Form von Blättchen kristallisiert. Das niedriger schmelzende Diacetat liefert unter gleichen Bedingungen ein isomeres Cholestendiol, das sich durch seine schwere Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln auszeichnet und durch einen höheren Schmelzpunkt von 255—256° (unkorr.) charakterisiert ist. Beide Diole sind von Rosenheim und Starling beschrieben worden, die die Schmelzpunkte der Verbindungen zu 176—177° bzw. 257—258° ermittelten.

Zur Konstitution der isomeren Cholestendiole.

Das bei 174° schmelzende Diol ist von Rosenheim und Starling so eingehend untersucht worden, daß an seiner Konstitution als 4-Oxy-cholesterin [Δ^5 -Cholesten-diol-(3.4)] der Formel II kein Zweifel bestehen kann.

¹⁾ vergl. Angew. Chem. **49**, 13 [1936]; B. **69**, 1163, 1165 [1936].

²⁾ vergl. H. Wieland u. Mitarb., Ztschr. physiol. Chem. **241**, 47 [1936], die mit dieser Methode Hydroxylgruppen in ungesättigte Gallensäuren eingeführt haben, und die Hinweise von Rosenheim u. Mitarb., Journ. chem. Soc. London **1933**, 387; **1936**, 462, und Journ. chem. Ind. **1933**, 1056. ³⁾ Journ. chem. Soc. London **1937**, 377.



Der überzeugendste Beweis für seinen Bau liegt u. a. in dem Übergang dieses Diols in einen ungesättigten Di-aldehyd (III) bei der Behandlung mit Bleitetraacetat und in der weiteren Abwandlung dieses Di-aldehyds in die bekannte Diels-Säure (IV). Außerdem geht das Diol bei der Behandlung mit Mineralsäure unter Abspaltung von Wasser in Cholestenon (X) über.

Das höher schmelzende Oxydationsprodukt ist von den englischen Autoren ebenfalls als einfach ungesättigtes Diol $C_{27}H_{46}O_2$ erkannt worden. Da es bei der Behandlung mit Mineralsäure ebenso wie das Diol vom Schmp. 174° unter Abspaltung von Wasser in Cholestenon (X) übergeht, sprechen sie beide Verbindungen als Raum-Isomere an. Von Bleitetraacetat wird das bei $255-256^{\circ}$ schmelzende Diol (im Gegensatz zu dem bei 174° schmelzenden) sehr langsam angegriffen; aus diesem Befund ist in Übereinstimmung mit der Schmelzpunktregel geschlossen worden, daß das höher schmelzende Diol ein *trans*-Glykol, das niedriger schmelzende Diol ein *cis*-Glykol der Formel II darstellt.

Die im folgenden beschriebenen Versuche sprechen nach unserer Überzeugung hingegen für eine Struktur-Isomerie der beiden Verbindungen, da sie den Nachweis erbringen, daß in dem bei 255—256° schmelzenden Diol kein Glykol, sondern das Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) der Formel V vorliegt. Die Entstehung dieses 3.6-Diols ist durch Allyl-Umlagerung aus einem Δ^5 -Cholesten-diol-(3.4) (II) leicht zu verstehen, andererseits ist ein Übergang des 3.6-Diols in Cholestenon (X) unter der Einwirkung von Mineralsäure durchaus vorstellbar.

Für die Konstitution des Δ^4 -Cholesten-diols-(3.6) sprechen folgende Befunde: Bei der Oxydation mit Chromsäure in Eisessig-Lösung liefert das Diol eine gut krystallisierte ungesättigte Keto-dicarbonsäure $C_{27}H_{42}O_5$ vom Schmp. 185—187° und einer optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} + 67.53^0$ (in Alkohol); der Dimethylester dieser Säure schmilzt bei 137—138° (unkorr.). Die Keto-dicarbonsäure $C_{27}H_{42}O_5$ kann nur die in der Formel VI angegebene Konstitution besitzen, denn es war uns leicht möglich, dieselbe Säure durch Oxydation des bekannten Δ^4 -Cholesten-dions-(3.6) (VII)⁴⁾ mit Chromsäure zu erhalten; außerdem läßt sie sich bei der energischen Behandlung mit Zinkstaub in Eisessig unter gleichzeitiger Reduktion der Doppelbindung in einen gesättigten Stoff $C_{26}H_{42}O_2$ überführen, der bei 114—115° (unkorr.) schmilzt und in dem wir ein Brenzketon der Formel IX vermuten^{4a)}. Für die Konstitution des hoch schmelzenden Diols im Sinne der Formel V spricht weiterhin die Tatsache, daß es bei der Behandlung mit Aluminium-isopropylat in Gegenwart von Aceton⁵⁾ in Cholestandion-(3.6)⁶⁾ (VIII) übergeht.

Da durch die hier geschilderten Befunde gezeigt wird, daß die bei der Oxydation des Cholesterins mit seleniger Säure auftretenden zwei Diole nicht stereoisomer, sondern strukturisomer sind und sich durch die Stellung der Hydroxylgruppen und die Lage der Doppelbindung unterscheiden, ist aus den bisher vorliegenden Versuchsergebnissen keine Aussage über die sterische Lage der Hydroxylgruppe in dem Glykol II zu machen, so daß die von den englischen Autoren für diesen Stoff gewählte Bezeichnung „*cis*“-Glykol unsicher geworden ist. Das von Rosenheim und Starling⁷⁾ aus dem „Oxycholesterin“ von Lifschütz⁸⁾ isolierte Diol muß nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit als Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) (V) angesehen werden. Seine Entstehung aus Cholesterin-dibromid mit Natriumacetat nach Lifschütz ist leicht verständlich.

Über die Anwendung der vorliegenden Erfahrungen in der Gruppe der Keimdrüsenhormone berichten wir später.

⁴⁾ Mauthner u. Suida, Monatsh. Chem. **17**, 584 [1896]; Windaus, B. **36**, 3756 [1903]. — Mauthner u. Suida haben bei der Oxydation des Cholestendions eine zähflüssige Masse erhalten; aus der Analyse eines Kupfersalzes leiteten sie die Formel $C_{27}H_{42}O_5$ ab; eine krystallisierte Säure dieser Zusammensetzung ist u. W. aus Cholestendion bisher nicht dargestellt worden und wird in vorliegender Arbeit erstmalig beschrieben.

^{4a)} Dieses Brenzketon ist nicht identisch mit einem Stoff gleicher Strukturformel, der von Windaus aus Cholestandion dargestellt wurde (Ztschr. physiol. Chem. **117**, 148 [1921]). Vermutlich handelt es sich um Raumisomerie am C_6 .

⁵⁾ vergl. Oppenauer, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **56**, 137 [1937].

⁶⁾ Windaus, B. **36**, 3755 [1903]; **39**, 2252 [1906].

⁷⁾ Journ. Soc. chem. Ind. **52**, 1056 [1933]; Journ. chem. Soc. London **1937**, 379.

⁸⁾ Ztschr. physiol. Chem. **106**, 279 [1919].

Beschreibung der Versuche.

Oxydation von Cholesterin-acetat mit seleniger Säure.

4 g Cholesterin wurden mit 100 ccm Essigsäure-anhydrid $\frac{1}{2}$ Stde. auf 105—110° erwärmt und unter Rühren tropfenweise mit einer Lösung von 2.5 g Selendioxyd in 5 ccm Wasser versetzt. Nach einer Reaktionsdauer von 2 Stdn. (Temperatur 105—110°), wurde das Umsetzungsprodukt mit Wasser gefällt, auf ein Filter gebracht, mit heißem Wasser gewaschen und durch Extraktion mit heißem Aceton vom größten Teil der anorganischen Begleitstoffe getrennt. Um die restlichen Anteile an Selen zu entfernen, ließen wir die Acetonlösung in eine 10-proz. wäbr. Kaliumcyanid-Lösung eintropfen, die nach mehrstündigem Stehen und häufigem Umschütteln mit Äther extrahiert wurde. Die ätherlöslichen Anteile stellten ein braunes Öl dar, das beim Verreiben mit Alkohol langsam krystallisierte und sich als Substanzgemisch erwies. Durch fraktionierte Krystallisation aus Methanol gelang es, zwei Stoffe in reiner Form zu isolieren:

a) Die schwerer löslichen Anteile krystallisierten in wohl ausgebildeten Nadeln vom Schmp. 165—166° (unkorr.) und einer optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} -94.5^{\circ}$ (in Chloroform). Ausb. etwa 25 %.

3.420 mg Sbst.: 9.565 mg CO₂, 3.120 mg H₂O.

C₃₁H₅₀O₄. Ber. C 76.48, H 10.36. Gef. C 76.30, H 10.21.

b) Die leichter löslichen Anteile krystallisierten aus Methanol in feinen Nadeln vom Schmp. 131—133° (unkorr.) und einer optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} -18.5^{\circ}$ (in Alkohol). Ausb. etwa 25 %.

3.846 mg Sbst.: 10.755 mg CO₂, 3.520 mg H₂O.

C₃₁H₅₀O₄. Ber. C 76.48, H 10.36. Gef. C 76.34, H 10.25.

Es handelt sich bei beiden Stoffen um Diacetate, die durch $\frac{3}{4}$ -stdg. Erwärmen mit 1-n. methylalkohol. Kalilauge zu den Diolen verseift werden können. Das bei 165° schmelzende Diacetat geht bei der Verseifung in 4-Oxycholesterin (II) vom Schmp. 174° (unkorr.) über, das aus Alkohol in Form von Blättchen krystallisiert.

5.027 mg Sbst.: 14.835 mg CO₂, 5.090 mg H₂O.

C₂₇H₄₆O₂. Ber. C 80.54, H 11.51. Gef. C 80.49, H 11.34.

Das niedriger schmelzende Diacetat (131—133°) liefert bei der Verseifung das Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) (V), das aus Chloroform-Aceton oder Alkohol in feinen Nadeln vom Schmp. 255—256° (unkorr.) krystallisiert. Das Diol ist sehr schwer löslich in allen organischen Lösungsmitteln und liefert bei Acetylierung das Ausgangsacetat vom Schmp. 131—133° zurück.

5.240 mg Sbst.: 15.485 mg CO₂, 5.290 mg H₂O.

C₂₇H₄₆O₂. Ber. C 80.54, H 11.51. Gef. C 80.60, H 11.30.

Oxydation des Δ^4 -Cholestendiols-(3.6).

5 g des Diols V wurden in 700 ccm Eisessig suspendiert, mit 5.2 g Chromsäure (etwa 6 O-Atomen) versetzt und während 12 Stdn. bei 20° energisch gerührt. Nach beendeter Reaktion lag eine klare Lösung vor, die mit Wasser versetzt und mit Äther aufgenommen wurde. Nach der Trennung in saure und neutrale Oxydationsanteile wurden 2 g an sauren und 1.94 g an neutralen Produkten erhalten. Die sauren Anteile wurden in Aceton gelöst, durch eine Schicht von Aluminiumoxyd filtriert und aus Aceton-Petroläther

umkrystallisiert. Es wurde so eine in Blättchen krystallisierende Säure erhalten, die nach geringer Sinterung um 130° einen Schmp. von 184—186° zeigte. Durch Krystallisation aus verd. Aceton war der Schmelzpunkt auf 185—187° (unkorr.) zu erhöhen. Die optische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} +67.53^{\circ}$ (in Alkohol).

4.502 mg Sbst.: 11.935 mg CO₂, 3.860 mg H₂O, 0.01 mg Rest. — 14.8, 9.8 mg Säure verbraucht. 0.615, 0.390 ccm n_{10}^{20} -NaOH.

C₂₇H₄₂O₅. Ber. C 72.60, H 9.49, Mol.-Gew. 446.3.

Gef. „ 72.46, „ 9.62, Äquiv.-Gew. 240, 250.

Methylester: Dargestellt durch Umsetzung der Säure mit Diazomethan; krystallisiert aus Aceton-Wasser in langen Nadeln vom Schmp. 137—138° (unkorr.), nach geringer Sinterung um 135°.

Methoxylbestimmung: 3.231 mg Sbst.: 3.220 mg AgJ.

C₂₉H₄₆O₅. Ber. OCH₃ 13.07. Gef. OCH₃ 13.17.

Oxydation des Cholesten-dions-(3.6).

665 mg Cholestendion wurden in 25 ccm Eisessig bei 70° 2 Stdn. mit 675 mg Chromsäure (6 O) oxydiert. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die in Kalilauge löslichen Anteile der Reaktion krystallisierten nach dem Animpfen mit der oben beschriebenen Keto-dicarbonsäure und lieferten ein Produkt, das nach mehrfachem Umlösen aus Aceton und Petroläther nach Sinterung bei 130° bei 180—183° schmolz. Die optische Drehung ergab $[\alpha]_D^{20} +68.42^{\circ}$ in Alkohol. Ausb. 30 mg an reiner Säure. Mischschmelzpunkt mit dem Oxydationsprodukt aus Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) ergab keine Depression.

4.842 mg Sbst.: 12.825 mg CO₂, 4.060 mg H₂O.

C₂₇H₄₂O₅. Ber. C 72.60, H 9.49. Gef. C 72.24, H 9.39.

Methylester: Dargestellt aus 12.3 mg Säure mit Diazomethan; nach dem Umkrystallisieren aus verd. Alkohol lag der Schmp. bei 137—138°. Ausb. 9 mg.

2.539 mg Sbst.: 6.820 mg CO₂, 2.260 mg H₂O.

C₂₉H₄₆O₅. Ber. C 73.37, H 9.76. Gef. C 73.26, H 9.96.

Der Ester erwies sich als identisch mit dem Ester des Oxydationsproduktes aus Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) (Mischprobe).

Überführung der Oxo-dicarbonsäure VI in ein Brenzketon C₂₆H₄₂O₂ (IX).

104.2 mg der Säure (Schmp. 185—187°) wurden in 25 ccm Eisessig gelöst und nach Zugabe von 2 g Zinkstaub 2 Stdn. zum Sieden erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Der ätherischen Lösung wurde der größte Teil der Essigsäure durch Ausschütteln mit 1-n. Kalilauge entzogen. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete ätherische Lösung lieferte nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ein Krystallinat, das aus verd. Alkohol in Form gut krystallisierter Nadeln erhalten wurde (Schmp. 114—115°). Ausbeute: Es wurden 12 mg an reiner Substanz isoliert, weitere 20 mg befanden sich in den Mutter-

laugen. Die Substanz ist in Sodalösung und Kalilauge auch beim Kochen unlöslich.

5.067 mg Sbst.: 14.970 mg CO₂, 4.980 mg H₂O.

C₂₆H₄₂O₂. Ber. C 80.77., H 10.96. Gef. C 80.58, H 11.00.

Umsetzung des Δ^4 -Cholesten-diols-(3.6) mit Aluminium-iso-propylat.

427 mg Δ^4 -Cholesten-diol-(3.6) wurden in 30 ccm Aceton suspendiert, mit 1 g frisch destillierten Aluminium-iso-propylats in 60 ccm Benzol versetzt und unter Feuchtigkeits-Ausschluß 10 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mit 1-n. Schwefelsäure und mit Wasser gründlich gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde aus Aceton umkristallisiert und zeigte einen Schmelzpunkt von 169°. Ausb. 300 mg an reinem Cholestan-dion-(3.6) (Mischprobe).

5.415 mg Sbst.: 16.070 mg CO₂, 5.440 mg H₂O.

C₂₇H₄₄O₂. Ber. C 80.94, H 11.07. Gef. C 80.94, H 11.24.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Schering-Kahlbaum A.-G. danken wir für ihre Unterstützung unserer Arbeit.

207. Z. Rodewald und E. Płazek: Untersuchungen über direkte Jodierung des Pyridins.

[Aus d. Chem. Institut d. Landwirtschaftl. Abteil. d. Techn. Hochschule Lwów, Polen.]

(Eingegangen am 21. April 1937.)

In den letzten Jahren wurde die direkte Bromierung des Pyridins von mehreren Forschern¹⁾ eingehend untersucht. Die präparativen Ergebnisse sind teilweise recht günstig; so erhält man z. B. eine verhältnismäßig gute Ausbeute an 3-Brom-pyridin oder 2-Brom-pyridin nach dem Verfahren von Hertog und Wibaut; zur Darstellung des 3.5-Dibrom-pyridins eignet sich gut das von Maier-Bode umgearbeitete Verfahren von Blau und A. W. Hofmann. Wir nahmen uns vor, die Möglichkeiten einer direkten Jodierung des Pyridins zu untersuchen, da wir in der Literatur hierüber nichts finden konnten.

Dabei zeigte sich zunächst, wie zu erwarten war, daß das Jodieren des Pyridins bedeutend schwerer verläuft als das Bromieren. Erhitzen von Pyridin mit Jod unter verschiedenen Bedingungen im Einschlußrohr führte nicht zur Bildung von Substitutionsprodukten, wie das bei der Einwirkung von Brom der Fall ist²⁾.

Beim Behandeln des geschmolzenen Pyridin-chlorhydrates mit elementarem Jod entstand in sehr geringer Ausbeute Pentajod-pyridin, während der größte Teil des Pyridins unangegriffen blieb. Pentajod-pyridin entstand

¹⁾ Hertog u. Wibaut, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **5**, 381 [1932]; F. Königs, Gerdes u. Sirot, C. **1933** I, 777; **1933** I, 4040; B. **61**, 1022 [1928]; Maier-Bode, B. **69**, 1535 [1936].

²⁾ A. W. Hofmann, B. **12**, 984 [1879]; **16**, 586 [1883].