

209. Ulrich Westphal, Yin-Lin Wang und Heinrich Hellmann: Über 17-Chlor-Derivate der Keimdrüsenhormone und einige ihrer Abwandlungsprodukte.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]
(Eingegangen am 24. Mai 1939.)

Im Rahmen der an unserem Institut durchgeführten Versuche zur Darstellung von 16.17-Glykolen der Keimdrüsenhormone¹⁾ haben wir einige 17-Chlor-Derivate dieser Wirkstoffe dargestellt und untersucht, ob aus ihnen durch Abspaltung von Chlorwasserstoff $\Delta^{16,17}$ -ungesättigte Verbindungen gewonnen werden können. Die gewünschten 17-Chlor-Derivate lassen sich leicht bereiten, jedoch zeigte es sich, daß die Abspaltung von Halogenwasserstoff — entgegen einer früher von uns wiedergegebenen Auffassung²⁾ — unter Umlagerung erfolgt, so daß die entsprechenden ungesättigten Verbindungen nicht als Ausgangsmaterial für die Darstellung der 16.17-Glykole in Frage kommen. Aus diesem Grunde wird die Untersuchung nicht fortgesetzt; im folgenden wollen wir einige der von uns gesammelten Erfahrungen beschreiben³⁾.

Darstellung und Eigenschaften von 17-Chlor-Derivaten der Keimdrüsenhormone.

Androsten-diol-(3.17)-monoacetat-(3), das durch katalytische Hydrierung⁴⁾ oder mit Hilfe von gärender Hefe⁵⁾ aus Dehydro-androsteronacetat gewonnen werden kann, liefert bei der Umsetzung mit Phosphorpentachlorid in Chloroform ein 17-Chlor- Δ^5 -androstenol-(3)-acetat (I) vom Schmp. 160—161°. Geht man vom Testosteron aus, so verläuft die Chlorierung weniger einheitlich: Neben dem gewünschten 17-Chlor- Δ^4 -androstenon-(3) (IV) vom Schmp. 148° wurde in kleiner Menge ein Stoff der Zusammensetzung $C_{19}H_{26}Cl_2$ vom Schmp. 127° isoliert, dem die Konstitution eines 3.17-Dichlor- $\Delta^{3,5}$ -androstadiens (V) zukommen dürfte⁶⁾, und als weiteres Nebenprodukt wurde Testosteron-phosphat (VI) vom Schmp. 160° erhalten.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung der dem Oestradiol entsprechenden 17-Chlor-Verbindung diente das Oestradiol-monobenzoat-(3), das technisch durch katalytische Hydrierung von Oestronbenzoat gewonnen wird. Bei der Umsetzung mit Phosphorpentachlorid in Chloroform wurde als Hauptprodukt das 17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat (VII) vom Schmp. 158° und der optischen Drehung $[\alpha]_D: +16.6^\circ$ erhalten; in sehr geringer Menge entstand ein isomeres Chlorid (Schmp. 198° $[\alpha]_D: +56.8^\circ$), das sich wohl durch die räumliche Lage des Chloratoms von der tiefer schmelzenden Verbindung unterscheidet.

Die physiologische Auswertung der 17-Chlor-Derivate der Keimdrüsenhormone hat gezeigt, daß sie noch eine hohe physiologische Wirksamkeit entfalten, die — wie die Wirkung von Estern — stark protrahiert

¹⁾ vergl. A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé u. Th. Weiß, B. **72**, 417 [1939].

²⁾ Angew. Chem. **51**, 493 [1938].

³⁾ vergl. Dissertationen von H. Hellmann u. Y.-L. Wang, Berlin 1939.

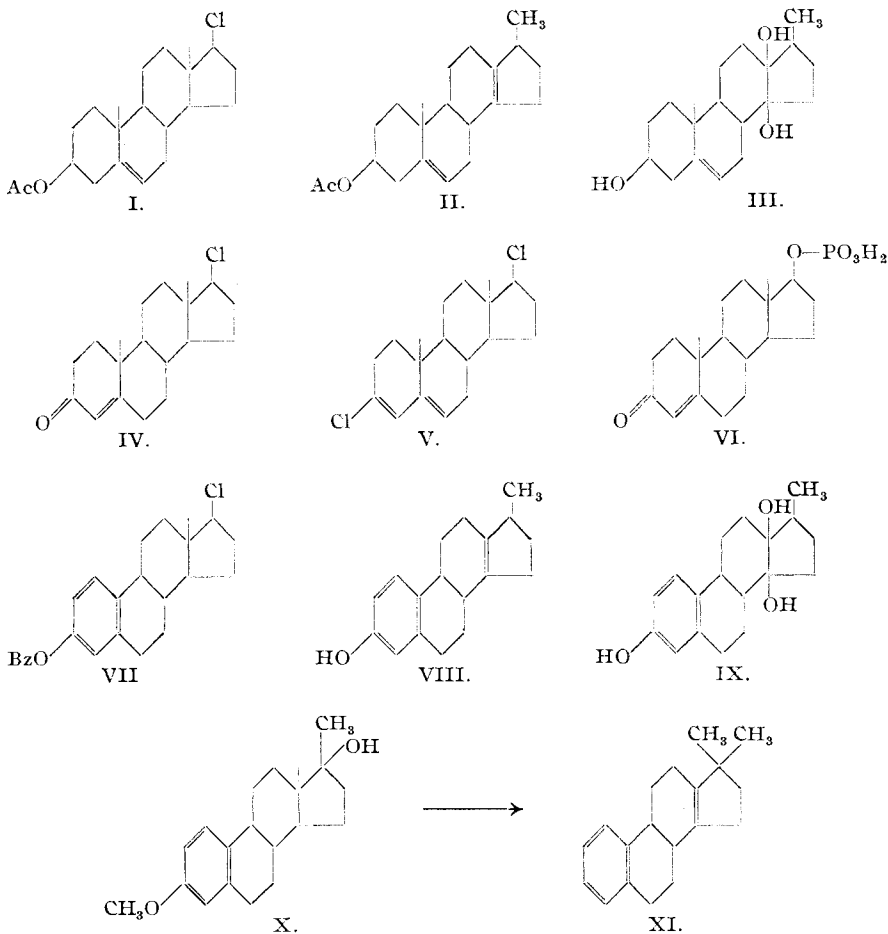
⁴⁾ L. Ruzicka u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **18**, 1273 [1935].

⁵⁾ Methodik: L. Mamoli u. A. Vercellone, Ztschr. physiol. Chem. **245**, 93 [1937].

⁶⁾ vergl. S. Kuwada, M. Miyasaka u. S. Yosiki, C. **1938** II, 1611.

ist. Aus der hohen physiologischen Wirkung folgern wir, daß die 17-Halogen-Derivate ohne Umlagerung aus den zugehörigen Alkoholen entstanden sind.

17-Chlor- Δ^5 -androst-1-en-3-yl-acetat (I) bewirkt im Hahnenkammtest nach der Methodik Fußgänger mit $5 \times 300 \gamma$ ein Flächenwachstum des Kapaunenkammes um etwa 30%. 17-Chlor- Δ^4 -androst-1-en-3-yl (IV)



rufft diesen Effekt nach einer 5-maligen Verabfolgung von etwa 15—30 γ hervor. 17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat (VII) löst an der kastrierten weiblichen Maus Brunst aus, und zwar zeigten $4 \times 100 \gamma$ an 100%, $4 \times 30 \gamma$ an 85% und $4 \times 10 \gamma$ an 60% der Versuchstiere eine positive Wirkung.

Testosteron-phosphat (VI) zeigt im Hahnenkammtest nach Butenandt und Tscherning eine physiologische Aktivität von $2 \times 1 \text{ mg}$ für die Kapaunen-Einheit, im Test nach Fußgänger bewirkt es mit $5 \times 3 \gamma$ ein Flächenwachstum des Kapaunenkammes um 30—40%, und im Vesiculardrüsentest an der infantilen Ratte bewirken $8 \times 250 \gamma$ einen Aufbau der Vesiculardrüse bis zur Sekretionsbereitschaft. Die relativ schwache männliche

Hormonwirksamkeit des Testosteron-phosphats ist vielleicht in einer geringen Resorbierbarkeit des Esters begründet; eine nennenswerte protrahierte Wirkung konnte nicht beobachtet werden. Im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus konnte mit einer Dosis von $4 \times 500 \gamma$ noch keine oestrogene Wirksamkeit festgestellt werden.

Über die Abspaltung von Chlorwasserstoff aus den 17-Chlor-Derivaten.

Die beschriebenen 17-Chlor-Derivate der Keimdrüsenhormone spalten leicht Chlorwasserstoff ab, wenn man sie mit Kaliumcyanid oder mit Natriumacetat in wäßrig-alkoholischer Lösung bei $120-130^{\circ}$ unter Zusatz von etwas Kaliumjodid erhitzt. Da das Testosteronchlorid (IV) sich unter diesen Bedingungen als äußerst empfindlich erwies, haben wir uns auf die Untersuchung der Salzsäureabspaltung aus 17-Chlor- Δ^5 -androsthenol-(3)-acetat (I) und 17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat (VII) beschränkt.

17-Chlor- Δ^5 -androsthenol-(3)-acetat (I) lieferte ein ungesättigtes, halogenfreies Produkt mit einem Schmp. zwischen 50 und 60° , das nach dem Acetylieren (um eine teilweise Verseifung der Acetatgruppe während der Reaktion auszuschließen) ein Krystallisat von der erwarteten Zusammensetzung eines Androstadienol-acetates $C_{21}H_{30}O_2$ mit einem unscharfen Schmp. um 75° lieferte. Obwohl die Eigenschaften dieses Acetates sich auch bei stets wiederholter Reinigung nicht änderten, ist seine Einheitlichkeit nicht ganz gesichert. Die weitere Untersuchung zeigte, daß in ihm nicht die gewünschte $\Delta^{16,17}$ -ungesättigte Verbindung vorlag, sondern daß bei der Abspaltung von Salzsäure eine Umlagerung unter Bildung einer ditertiären Doppelbindung eingetreten ist. Es ist wohl nicht fraglich, daß es sich um eine Retropinakolin-Umlagerung handelt; wir bezeichnen daher das entstandene Dienolacetat als „retro-Androstadienol-(3)-acetat“ und glauben, daß ihm der Formeltyp⁷⁾ II zukommt. In Übereinstimmung mit dieser Konstitution stehen die folgenden Befunde.

retro-Androstadienol-(3)-acetat (II) wurde mit der für 2 Doppelbindungen berechneten Menge Osmiumsäure in ätherischer Lösung umgesetzt; die Aufarbeitung, im Verlauf derer die Acetylgruppe durch Kochen mit Natriumsulfit verseift wurde, führte als Hauptprodukt zu einem Triol $C_{19}H_{30}O_3$ vom Schmp. 223° , das bei der Umsetzung mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin selbst beim längeren Erhitzen nur ein Mono-acetat lieferte. Daraus folgern wir, daß die beiden angelagerten Oxygruppen tertiärer Natur sind, und wir erteilen dem Triol den Formeltyp III⁸⁾.

Die ursprüngliche Δ^5 -ständige Doppelbindung ist im vorliegenden Fall durch die Osmiumsäure nicht angegriffen worden; für diesen Schutz ist die Acetatgruppe am C_3 verantwortlich zu machen, denn wir konnten am Dehydroandrosthenon-acetat ebenfalls keine Reaktion der Doppelbindung mit Osmiumsäure erzielen. Während freies Dehydroandrosthenon bei der Behandlung mit Osmiumtetroxyd in ätherischer Lösung bei Zimmertemperatur in glatter Reaktion in das Androstanon-(17)-triol-(3.5.6) übergeht⁹⁾, erreichten

⁷⁾ Die Lage der ditertiären Doppelbindung in II (bzw. VIII) ist unsicher, möglich wäre auch die Stellung 13.17.

⁸⁾ Falls sich die Doppelbindung in II (bzw. VIII) zwischen C_{13} und C_{17} befindet (s. Anmerkung 7), so würde dem Triol die Konstitution eines 3.13.17-Trioxyderivates zukommen.

⁹⁾ A. Lutenberg, Nature (London) **140**, 466 [1937].

wir unter den gleichen Bedingungen selbst bei 5-tägiger Reaktionsdauer mit dem Dehydroandrosteron-acetat keine Umsetzung. Dieser Schutz der $\Delta^{5,6}$ -ständigen Doppelbindung gegen den Angriff von Osmiumsäure durch Veresterung der 3-ständigen Hydroxylgruppe hat sich auch in anderen Fällen als präparativ nützlich erwiesen¹⁰⁾.

Einen weiteren Hinweis auf den ditertiären Charakter der neu entstandenen Doppelbindung im *retro*-Androstadienol-(3)-acetat sehen wir in der stark positiven Farbreaktion nach Tortelli und Jaffé¹¹⁾. Diese Probe, für deren positiven Ausfall in erster Linie Doppelbindungen zwischen quartären C-Atomen verantwortlich sein sollen, wird durch Unterschichten der essigsauren Lösung der zu prüfenden Substanz mit einer 2-proz. Lösung von Brom in Chloroform hervorgerufen; die nähere Untersuchung ergab ihre Brauchbarkeit zur Erkennung ringständiger ditertiärer Doppelbindungen für eine ganze Reihe ungesättigter Steroide¹²⁾.

Bei der Abspaltung von HCl aus dem 17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat (VII) mit Kaliumcyanid wurde unter gleichzeitiger Verseifung der Benzoatgruppe ein *retro*-Oestratetraen-ol-(3) (Schmp. 163⁰) erhalten, das aus einem offenbar vorliegenden Gemisch von Isomeren schwer rein darstellbar war. Wurde die HCl-Abspaltung unter Verwendung von Natriumacetat durchgeführt, so trat keine Verseifung ein; ein auf diese Weise dargestelltes *retro*-Oestratetraen-ol-(3)-benzoat vom Schmp. 159⁰ lieferte bei der Verseifung das vorstehend erwähnte *retro*-Oestratetraen-ol-(3) (Schmp. 163⁰). Aus der Mutterlauge des Benzoates 159⁰ wurde in geringer Menge ein isomeres Benzoat vom Schmp. 133⁰ isoliert, das bei der Verseifung ein zweites *retro*-Oestratetraen-ol-(3) (Schmp. 125⁰) lieferte. Beide *retro*-Oestratetraen-ole-(3) liefern stark positive Reaktionen nach Tortelli-Jaffé¹²⁾; dieser Befund weist darauf hin, daß auch im Falle der Oestranderivate die Abspaltung der Salzsäure unter Retropinakolin-Umlagerung erfolgt ist, und daß den Abspaltungsprodukten Konstitutionsformeln entsprechend dem Typ VIII⁷⁾ zukommen dürften. Diese Formulierung findet ihre Parallele in dem von J. W. Cook¹³⁾ und Mitarbeitern erhobenen Befund, daß die Wasserabspaltung aus dem 17-Methyl-oestradiol-(3.17)-methyläther-(3) (X) mit Kaliumbisulfat ein Isomerengemisch liefert, das ebenfalls unter Retropinakolin-Umlagerung (X \rightarrow XI) entsteht.

Das *retro*-Oestratetraen-ol-(3) (VIII) vom Schmp. 163⁰ lieferte bei der Behandlung mit Osmiumsäure ein Triol $C_{18}H_{24}O_3$ vom Schmp. 241⁰. Diesem Isomeren des Oestriols kommt wahrscheinlich der Formeltyp IX zu⁸⁾.

Die physiologische Prüfung der vorstehend beschriebenen *retro*-Derivate hat ergeben, daß ihnen keine biologische Bedeutung zukommt: Die *retro*-Derivate der Androstanreihe haben ihre männliche Wirksamkeit praktisch vollkommen eingebüßt; sie sind selbst mit einer Dosis von $5 \times 100 \gamma$ im Fußgänger-Test ohne jede Wirkung auf das Wachstum des Hahnenkamms. Auch in diesem Befund kann man eine Bestätigung dafür erblicken, daß bei der Abspaltung von Chlorwasserstoff eine intramolekulare Umlagerung stattgefunden hat.

¹⁰⁾ Vergl. A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé u. H. Paul, B. **72**, 1114 [1939].

¹¹⁾ Chem.-Ztg. **39**, 14 [1915], zit. nach Helv. chim. Acta **12**, 187 [1929].

¹²⁾ Vergl. folgende Mitteilung.

¹³⁾ A. Cohen, J. W. Cook, C. L. Hewett, Journ. chem. Soc. London **1935**, 445.

Auch die *retro*-Derivate der Oestranreihe erwiesen sich als wenig aktiv. Das *retro*-Oestratetraenol-(3) (VIII) war am Kapaun im Fußgänger-Test mit $5 \times 100 \gamma$ und an der Maus im Allen-Doisy-Test mit $1 \times 750 \gamma$ ohne nachweisbare physiologische Wirksamkeit; das *retro*-Oestratrien-triol (IX) zeigte im Allen-Doisy-Test mit einer Dosis von $1 \times 100 \gamma$ (in Öl) Volloestrus an 33% der verwendeten kastrierten weiblichen Mäuse.

Die physiologischen Prüfungen wurden von Fr. D. von Dresler und Fr. U. Meinerts ausgeführt. Der Schering A.-G., Berlin, danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche¹⁴⁾.

I) Umsetzungen am Dehydro-androsteron.

Δ^5 -Androsten-diol-(3.17)-monoacetat-(3).

a) Durch katalytische Hydrierung von Dehydro-androsteronacetat: 150 mg Dehydro-androsteronacetat wurden in 30 ccm Alkohol mit Raney-Katalysator unter Einleiten von Wasserstoff geschüttelt. Es wurde die 1 Mol. entsprechende Menge Wasserstoff aufgenommen. Dann wurde filtriert, das Filtrat eingengt und der farblose, sofort krystallisierende Rückstand aus verd. Aceton umgelöst. Das Δ^5 -Androsten-diol-(3.17)-monoacetat-(3) wurde in langen Nadeln vom Schmp. 144—145° erhalten; Ausb. 85%. $[\alpha]_D^{20}$: -55.8^0 (in Alkohol).

5.065 mg Sbst.: 14.100 mg CO₂, 4.380 mg H₂O.

C₂₁O₃₂O₃. Ber. C 75.86, H 9.70. Gef. C 75.95, H 9.68.

b) Durch enzymatische Hydrierung von Dehydro-androsteron-acetat: In der Lösung von 67 g Rohrzucker in 500 ccm Wasser wurden 33.5 g Bäckerhefe suspendiert. Hierzu wurde unter ständigem Umrühren die Lösung von 200 mg Dehydro-androsteron-acetat in 35 ccm Alkohol langsam tropfenweise zugegeben. Nachdem der Ansatz 3 Tage bei 15° gegoren hatte, wurde die Gärflüssigkeit 6-mal ausgeäthert und auf etwa 100 ccm eingengt. Zur Entfernung von gefärbten Stoffen wurde die ätherische Lösung mehrmals mit 5-proz. Sodalösung ausgeschüttelt und anschließend bis zur neutralen Reaktion mit Wasser gewaschen. Nach dem Eindampfen der mit Natriumsulfat getrockneten ätherischen Lösung wurde das Rohprodukt im Hochvakuum destilliert; die anfallenden Krystalle wurden aus verd. Alkohol umgelöst. Auf diese Weise wurde das Δ^5 -Androstendiol-(3.17)-monoacetat-(3) vom Schmp. 144—145° in einer Ausbeute von 80% erhalten. $[\alpha]_D^{20}$: -55.6^0 (in Äthanol).

17-Chlor- Δ^5 -androsten-ol-(3)-acetat (I)¹⁵⁾.

100 mg Δ^5 -Androstendiol-(3.17)-monoacetat-(3) wurden in der beim Oestradiol-monobenzoat unten näher beschriebenen Weise unter Zusatz von 100 mg wasserfreiem Calciumcarbonat in 3 ccm Chloroform mit etwa 100 mg fein gepulvertem Phosphorpentachlorid umgesetzt. Nach Zugabe

¹⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

¹⁵⁾ Die Darstellung von 17-Chlor- Δ^5 -androstenol-(3)-acetat wurde erstmalig von Hrn. Dr. Logemann im Hauptlaborat. der Schering A.-G., Berlin, durchgeführt; Hrn. Dr. Dannenbaum danken wir für die Mittel. seiner Erfahrung auf gleichem Gebiet.

der Bicarbonatlösung wurden die vereinigten Benzolauszüge gewaschen, getrocknet und durch mehrmaliges Eindampfen im Vak. vom Chloroform befreit. Die Benzol-Lösung wurde unter Verwendung von Aluminiumoxyd chromatographiert, eingengt und das erhaltene krystalline Rohprodukt aus verd. Aceton umgelöst. Das 17-Chlor- Δ^5 -androsthenol-(3)-acetat (I) wurde in blattförmigen Krystallen vom Schmp. 157—160° in einer Ausbeute von 45% erhalten. Mehrmaliges Umkrystallisieren aus verd. Aceton führte zum konstanten Schmp. von 160—161°. $[\alpha]_D^{20}$: —56.5° (in Chloroform).

5.199 mg Sbst.: 13.720 mg CO₂, 4.080 mg H₂O. — 8.007 mg Sbst.: 3.180 mg AgCl.
C₂₁H₃₁O₂Cl. Ber. C 71.87, H 8.90, Cl 10.11. Gef. C 72.01, H 8.78, Cl 9.82.

Abspaltung von Chlorwasserstoff: *retro*-Androstadienol-(3)-acetat (II).

150 mg 17-Chlor- Δ^5 -androsthenol-(3)-acetat wurden mit 100 mg pulverisiertem Kaliumcyanid in 100 ccm Methanol oder 85-proz. Alkohol nach Zusatz von etwa 20 mg Kaliumjodid im Bombenrohr 22 Stdn. auf 120° erhitzt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde etwas eingengt, in viel Wasser gegossen und 3-mal ausgeäthert. Die Ätherauszüge wurden vereinigt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Eindampfen wurde aus Aceton ein Rohkrystallisat in einer Ausbeute von über 90% erhalten. Um die möglicherweise bei der Behandlung mit Kaliumcyanid verseiften Anteile wieder in Acetat überzuführen, wurde das Rohprodukt bei Zimmertemperatur mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin umgesetzt. Durch mehrfaches Umkrystallisieren aus verd. Aceton wurde das *retro*-Androstadienol-(3)-acetat (II) vom Schmp. 75° erhalten; $[\alpha]_D^{20}$: +68.0° (in Alkohol). Es zeigt mit Tetranitromethan in Eisessig eine Gelbfärbung.

2.034 mg Sbst.: 5.995 mg CO₂, 1.750 mg H₂O.
C₂₁H₃₀O₂. Ber. C 80.21, H 9.62. Gef. C 80.39, H 9.63.

Behandlung des *retro*-Androstadienol-(3)-acetates mit Osmiumsäure: *retro*-Androsten-triole (III).

100 mg des doppelt ungesättigten Acetates (II) vom Schmp. 75° wurden in 5 ccm Äther gelöst und mit einer Lösung von 180 mg Osmiumtetroxyd (entspr. 2.2 Mol.) in 18 ccm Äther versetzt. Nach 23-stdg. Aufbewahren bei Zimmertemperatur wurde der Äther im Vak. abgedampft und der Rückstand mit einer Lösung von 1.5 g Natriumsulfit in 18 ccm Wasser und 10 ccm Alkohol auf dem Wasserbade gekocht; darauf wurde heiß filtriert und der Filtrückstand noch 3-mal mit Alkohol ausgekocht und filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden mit einer Mischung von Äther und Chloroform (3:1) ausgeschüttelt, die Extrakte mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Aus Aceton wurde ein Triol (III) in Würfeln vom Schmp. 223° (Sinterung 218°, Mikroschmelzpunktsapparat nach Kofler) in einer Ausbeute von 46% erhalten.

5.178 mg Sbst.: 14.105 mg CO₂, 4.540 mg H₂O.
C₁₉H₃₀O₃. Ber. C 74.47, H 9.86. Gef. C 74.32, H 9.81.

Aus der Mutterlauge wurde durch fraktionierte Krystallisation ein isomeres Triol in Form langer Nadeln vom Schmp. 152—153° erhalten.

4.550 mg Sbst.: 12.410 mg CO₂, 4.050 mg H₂O.
C₁₉H₃₀O₃. Ber. C 74.47, H 9.86. Gef. C 74.41, H 9.96.

retro-Androstentriol-monoacetat-(3) aus dem Triol (III) vom Schmp. 223⁰.

29 mg Triol vom Schmp. 218—223⁰ wurden in 3 ccm absol. Pyridin gelöst, mit 3 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt und 23 Stdn. bei Zimmer-temperatur aufbewahrt. Die Reaktionslösung wurde dann mit einem Gemisch von Äther und Chloroform versetzt, 2-mal mit 2-proz. Schwefelsäure, 2-mal mit 2-proz. Natronlauge und anschließend 2-mal mit Wasser ausgewaschen. Der Äther-Chloroform-Auszug wurde mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Aus Aceton wurde das Monoacetat des Triols 223⁰ in Form von langen Nadeln vom Schmp. 144—146⁰ erhalten. Ausb. 25 mg.

5.181 mg Sbst.: 13.750 mg CO₂, 4.260 mg H₂O.

C₂₁H₃₂O₄. Ber. C 72.38, H 9.25. Gef. C 72.41, H 9.20.

Versuch zur weiteren Acetylierung des Monoacetats.

20 mg Triol-monoacetat vom Schmp. 146⁰ wurden in 2 ccm wasserfreiem, destilliertem Pyridin gelöst und mit 1 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt. Die Lösung wurde 4 Stdn. unter Rückfluß auf einem kochenden Wasserbad (unter Feuchtigkeitsschluß) erhitzt. Der Ausgangsstoff wurde in fast quantitativer Ausbeute zurück-erhalten.

Umsetzung des Dehydro-androsteron-acetates mit Osmiumsäure.

500 mg Dehydro-androsteron-acetat vom Schmp. 169⁰ wurden in 20 ccm Äther gelöst, mit 60 ccm einer 1-proz. Lösung von Osmiumtetroxyd in Äther versetzt und 5 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde freies Dehydro-androsteron in fast quantitativer Ausbeute isoliert.

II) Umsetzungen am Testosteron.

Chlorierung des Testosterons.

500 mg Testosteron wurden unter Zusatz von 500 mg trockenem Calciumcarbonat in 5—7 ccm trockenem Chloroform mit 600 mg Phosphorpentachlorid umgesetzt und in gleicher Weise wie Oestradiol-monobenzoat und Δ^9 -Androstendiol-(3.17)-monoacetat weiter verarbeitet. Die Reinigung des Reaktionsproduktes erfolgte auch hier mit Aluminiumoxyd (Merck). Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels im Vak. konnte das zurückgebliebene Öl aus Aceton-Wasser kristallisiert werden. Beim Wiederauflösen dieses Krystallisates blieb Testosteronphosphat (VI) ungelöst zurück. Das Gelöste lieferte bei der fraktionierten Krystallisation aus Aceton-Wasser, Alkohol-Wasser und reinem Aceton zuerst 3.17-Dichlor- $\Delta^{3.5}$ -androstadien (V) und dann als Hauptprodukt 17-Chlor- Δ^4 -androstenon-(3) (IV).

17-Chlor- Δ^4 -androstenon-(3) (IV): Es kristallisiert in kleinen farblosen Blättchen mit dem Schmp. 148⁰; im Rohzustand ist es außerordentlich unbeständig, so daß es nur für kurze Zeit trocken gehalten werden kann. Im reinen Zustand ist es weit beständiger. Es löst sich sehr leicht in fast allen organ. Lösungsmitteln. Wie die erste Analyse zeigt, konnte das Chlorandrostenon nicht völlig vom anhaftenden Dichlor-androstadien befreit werden. Die zweite Analyse wurde nach häufigem Umkrystallisieren ausgeführt, wo-

durch aber offensichtlich nicht eine größere Reinigung erzielt wurde, sondern ein geringer Zerfall des Chlor-androstenons.

4.473, 5.101 mg Sbst.: 12.105, 13.820 mg CO₂, 3.550, 4.150 mg H₂O. — 9.090, 5.101 mg Sbst.: 4.680, 2.790 mg AgCl.

C₁₉H₂₇OCl. Ber. C 74.35, H 8.87, Cl 11.56.

Gef. „ 73.85, 73.93, „ 8.88, 9.10, „ 12.73, 10.85.

3.17-Dichlor- $\Delta^{3,5}$ -androstadien: Es kristallisiert wie das Chlorandrostenon in farblosen Blättchen und zeigt die gleichen Löslichkeitsverhältnisse wie dieses. Sein Schmp. liegt bei 127°. Mit Tetranitromethan gibt es eine Gelbfärbung.

5.110 mg Sbst.: 13.185 mg CO₂, 3.780 mg H₂O.

C₁₉H₂₆Cl₂. Ber. C 70.15, H 8.06. Gef. C 70.40, H 8.27.

Testosteronphosphat: Der Phosphorsäure-ester des Testosterons konnte infolge seiner Schwerlöslichkeit in Aceton leicht von den übrigen Reaktionsprodukten abgetrennt werden. Durch Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser wurde er in Nadeln erhalten, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten und bei 160° unter Aufschäumen schmolzen. Er ist sehr leicht löslich in Methanol, schwerer in Äthanol und sehr schwer in Aceton und Wasser. Das Krystallwasser konnte auch durch 3-tägiges Erhitzen (bei 100°) im Vak. über Phosphorpentoxyd nicht ausgetrieben werden. Die beiden Analysen wurden vor und nach dieser Trocknung ausgeführt.

5.304, 4.355 mg Sbst.: 11.635, 9.560 mg CO₂, 3.880, 3.230 mg H₂O. — 9.821, 9.910 mg Sbst.: 53.340, 52.570 mg Phosph.-ammon.-molybd.

C₁₉H₂₉O₅P + 1H₂O. Ber. C 59.05, H 8.08, P 8.01.

Gef. „ 59.86, 59.90, „ 8.19, 8.29, „ 7.89, 7.71.

III) Umsetzungen am Oestradiol.

17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat (VII) vom Schmp. 158°.

4 g Oestradiol-monobenzoat vom Schmp. 194—195° wurden in 45 ccm wasserfreiem Chloroform gelöst und unter Zusatz von 4 g wasserfreiem Calciumcarbonat in einem Zweihalskolben mit Rührer unter Feuchtigkeitsausschluß bis zur Abkühlung auf 0° in einem Eisbad gerührt. Unter weiterer Rührung und Kühlung wurden 4—4½ g fein gepulvertes Phosphorpentachlorid in kleinen Portionen im Verlauf von etwa 1½ Stdn. eingetragen. Gegen Ende der Reaktion trat eine leuchtend orangefelbe bis rote Färbung auf. Es wurden dann etwa 40 ccm eiskalte gesättigte Natriumbicarbonatlösung eingegossen und weiter gerührt. Darauf wurde die Chloroformschicht abgetrennt und die wäßrige Phase 3-mal mit Benzol ausgeschüttelt; die mit dem Chloroform vereinigten Benzollösungen wurden mehrmals mit gesättigter Bicarbonatlösung und Wasser gewaschen. Die mit Natriumsulfat getrocknete Lösung wurde im Vak. unter 2-maligem Nachgießen von Benzol stark eingengt, mit Benzol verdünnt und durch eine Aluminiumoxydsäule (Al₂O₃ Merck, standard. nach Brockmann) chromatographiert; es erwies sich als notwendig, mit etwa 1.5 l frischem Benzol nachzuwaschen. Die Lösung wurde im Vak. vom Benzol befreit und das zurückgebliebene zähe, gelbliche Öl aus Aceton unter Zusatz von wenig Wasser zur Krystallisation gebracht. Das durch Umlösen aus Alkohol und verd. Aceton gereinigte 17-Chlor-oestratrienol-benzoat schmolz bei 158°. Es kristallisiert in 2 Modifikationen: in langen, stark verfilzten Nadeln, die sich beim schnellen Abkühlen der Lösung in den meisten Fällen zuerst bilden, und kurzen,

stark lichtbrechenden Prismen. Durch Auflösen in Alkohol oder Aceton und Animpfen mit einer der beiden Krystallformen lassen sie sich wechselseitig ineinander überführen. Unter dem Schmelzpunktmikroskop nach Kofler ist ein Unterschied im Schmp. der beiden Formen nicht feststellbar; beim Abkühlen der Schmelzen beider Formen entstehen regelmäßig die stark lichtbrechenden Prismen. Die Ausbeute an 17-Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat betrug durchschnittlich etwa 40—50%.

5.159 mg Sbst.: 14.380 mg CO₂, 3.140 mg H₂O. — 10.552 mg Sbst.: 3.770 mg AgCl. C₂₅H₂₇O₂Cl. Ber. C 76.01, H 6.90, Cl 8.98. Gef. C 76.02, H 6.81, Cl 8.84.

15.7 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform, $l = 1$ dm. $\alpha = +0.13^\circ$; $[\alpha]_D^{25}$: +16.6°.

In den Mutterlaugen des Chlorderivates vom Schmp. 158° fand sich in etwas wechselnder Menge ein gut krystallisierendes, niedrig schmelzendes Produkt, das starke Beilsteinreaktion zeigte. Durch häufiges Umkrystallisieren aus reinem und verd. Aceton wurde ein Krystallinat vom Schmp. 123° erhalten, dessen Analyse auf eine Molekülverbindung des Chlorides mit einem HCl-Abspaltungsprodukt hinweist.

5.259 mg Sbst.: 15.455 mg CO₂, 3.320 mg H₂O. — 13.409 mg Sbst.: 2.395 mg AgCl. C₂₅H₂₇O₂Cl + C₃₅H₂₆O₂. Ber. C 79.70, H 7.10, Cl 4.71. Gef. C 80.15, H 7.07, Cl 4.72.

Isomeres Chlor-oestratrienol-(3)-benzoat vom Schmp. 198°.

Bei einem Ansatz wurde neben dem Chlorid vom Schmp. 158° ein isomeres Chlor-oestratrienol-benzoat aufgefunden, das nach dem Umkrystallisieren aus reinem Aceton bei 198° unt. Zers. (geringe Gasentwicklung) schmolz.

4.592 mg Sbst.: 12.830 mg CO₂, 2.920 mg H₂O. — 7.471 mg Sbst.: 2.725 mg AgCl. C₂₅H₂₇O₂Cl. Ber. C 76.01, H 6.90, Cl 8.98. Gef. C 76.20, H 7.12, Cl 9.02.

15.5 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform, $l = 1$ dm. $\alpha = +0.44^\circ$; $[\alpha]_D^{25}$: +56.8°.

Abspaltung von Chlorwasserstoff mit Kaliumcyanid: *retro*-Oestratetraen-ol-(3) (VIII).

300 mg des Chlorides VII vom Schmp. 158° wurden mit 24 ccm reinem Alkohol, der Lösung von 210 mg Cyankalium in 6 ccm Wasser und einem Krystall Kaliumjodid im Bombenrohr 12 Stdn. auf 120—125° erhitzt. Die Lösung wurde im Vak. etwas eingeeengt, mit viel Wasser versetzt und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wurde gewaschen, getrocknet und völlig eingedampft. Der Rückstand lieferte aus verd. Methanol 140 mg eines farblosen Krystallinates vom Schmp. 135—137°, das sich als frei von Halogen und Stickstoff erwies. Die Reinigung durch Umkrystallisieren aus verd. Methanol und verd. Äthanol war schwierig; offenbar lag eine schwer trennbare Mischung vor; ein Krystallinat, dessen bei 152° liegender Schmp. sich durch weiteres Fraktionieren noch erhöhen ließ, zeigte bereits die Zusammensetzung eines Oestratetraenols:

4.691 mg Sbst.: 14.615 mg CO₂, 3.640 mg H₂O.

C₁₈H₂₂O. Ber. C 84.98, H 8.73. Gef. C 84.97, H 8.68.

Durch weiteres Umkrystallisieren aus verd. Äthanol und Methanol wurde ein einheitlicher Stoff mit dem Schmp. 163° erhalten. Das *retro*-Oestratetraenol ist leicht löslich in organischen Lösungsmitteln.

5.072 mg Sbst.: 15.810 mg CO₂, 3.920 mg H₂O.

C₁₈H₂₂O. Ber. C 84.98, H 8.73. Gef. C 85.01, H 8.65.

22.3 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform, $l = 1$ dm; $\alpha = -0.39^\circ$; $[\alpha]_D^{25}$: —35.0°.

Abspaltung von Chlorwasserstoff mit Natriumacetat:

Isomere *retro*-Oestratetraenol-(3)-benzoate.

450 mg des Chlorides VII vom Schmp. 158° wurden im Bombenrohr mit 300 mg Natriumacetat in 30 ccm 80-proz. Alkohol und etwas Jodkali 12 Stdn. auf 125° erhitzt. Die in der Hitze völlig klare, schwach gelb gefärbte Reaktionslösung schied beim Abkühlen gelbliche Krystalle vom Schmp. 135° bis 140° aus; Ausb. 240 mg. Durch Behandeln mit wenig Tierkohle und Umlösen aus Chloroform-Alkohol und Aceton wurde ein völlig farbloses Krystallisat vom Schmp. 159° erhalten. Das *retro*-Oestratetraenol-(3)-benzoat ist sehr leicht löslich in Chloroform, leicht löslich in heißem, schwerer löslich in kaltem Aceton; in Alkohol ist es sehr schwer löslich.

5.102 mg Sbst.: 15.660 mg CO₂, 3.330 mg H₂O.

C₂₅H₂₆O₂. Ber. C 83.75, H 7.32. Gef. C 83.75, H 7.30.

32.6 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform, *l* = 1 dm. $\alpha = +0.29^\circ$; $[\alpha]_D^{20}$: +17.8°.

Verseifung: 220 mg Benzoat vom Schmp. 159° wurden in 30 ccm 5-proz. methylalkohol. Kalilauge 40 Min. gekocht. Die Reaktionslösung wurde in verd. Schwefelsäure eingegossen und ausgeäthert. Es wurde das oben beschriebene *retro*-Oestratetraenol-(3) vom Schmp. 163° erhalten.

4.994 mg Sbst.: 15.580 mg CO₂, 3.890 mg H₂O.

C₁₈H₂₂O. Ber. C 84.98, H 8.73. Gef. C 85.08, H 8.72.

Aus der Mutterlauge des Tetraenol-benzoates vom Schmp. 159° wurde in kleiner Menge ein Stoff isoliert, der nach Umkrystallisieren aus Aceton konstant bei 133° schmolz. Er stellt ein isomeres Oestratetraenol-(3)-benzoat dar:

4.847 mg Sbst.: 14.895 mg CO₂, 3.230 mg H₂O.

C₂₅H₂₆O₂. Ber. C 83.75, H 7.32. Gef. C 83.81, H 7.46.

35.8 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform, *l* = 1 dm. $\alpha = +1.24^\circ$; $[\alpha]_D^{20}$: +69.3°.

Die Verseifung des Benzoates vom Schmp. 135°, die in gleicher Weise wie bei dem Isomeren durchgeführt wurde, lieferte ein Krystallisat, das konstant bei 125° schmolz.

Umsetzung des *retro*-Oestratetraenols-(3) mit Osmiumsäure.

140 mg des *retro*-Oestratetraenols-(3) (VIII) vom Schmp. 163° wurden in 10 ccm Äther gelöst und mit der für eine Doppelbindung ber. Menge Osmiumsäure (140 mg) in 14 ccm Äther versetzt. Nach 24-stdg. Aufbewahren bei Zimmertemperatur wurde der Äther im Vak. verdampft; der Trockenrückstand wurde mit 1 g Natriumsulfit in 20 ccm 50-proz. Alkohol 1 Stde. gekocht, die Lösung filtriert und das Unlösliche 4-mal mit Alkohol ausgekocht. Die vereinigten Filtrate wurden im Vak. eingengt, mit gesättigter Kochsalzlösung verdünnt und mit Äther-Chloroform ausgezogen. Es wurden aus verd. Alkohol 54 mg eines bei 197—215° schmelzenden Rohkrystallisates gewonnen; nach dem Umlösen aus verd. und reinem Alkohol lag der Schmp. des erhaltenen *retro*-Oestratrien-triols (IX) konstant bei 241°. Der Stoff ist schwer löslich in organischen Lösungsmitteln.

4.582 mg Sbst.: 12.580 mg CO₂, 3.450 mg H₂O.

C₁₈H₂₄O₃. Ber. C 74.95, H 8.39. Gef. C 74.91, H 8.43.

Aus einem in der gleichen Weise mit Osmiumsäure umgesetzten unreinen Tetraenol vom Schmp. 130—133° wurde nach Umkrystallisieren aus verd. Methanol und Äthanol ein leichter lösliches Krystallisat vom Schmp. 187° erhalten, dessen Analyse auf ein Triol mit ½ Mol. Krystallwasser hindeutet:

4.815 mg Sbst.: 12.875 mg CO₂, 3.710 mg H₂O.

C₁₈H₂₄O₃ + ½ H₂O. Ber. C 72.68, H 8.48. Gef. C 72.92, H 8.62.