

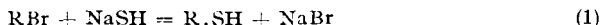
7. Theodor Wagner-Jauregg und Theodor Lennartz: Thiocholesterin.

[Aus d. Chem. Abtlg. d. Forschungsinstituts für Chemotherapie, Frankfurt a. M.]

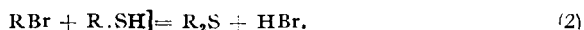
(Eingegangen am 3. Dezember 1940.)

Da einige höhere Alkylrhodanide, vor allem Chaulmoogryl- und Oleylrhodanid eine therapeutische Wirkung bei Lepra-infizierten Ratten und Mäusen ausüben¹⁾ erschien es wünschenswert festzustellen, ob auch die diesen Substanzen zugrunde liegenden Thiole in gleichem Sinne wirken. Man kann diese aus den entsprechenden Rhodaniden durch Reduktion erhalten. Einfacher und ergiebiger ist die Darstellung durch Umsetzung der Alkyl-bromide mit Natriumhydrosulfid in alkoholischer Lösung. So stellten wir Undecyl-, Hydnocarpyl-, Chaulmoogryl- und Oleylmercaptan her; zur Prüfung im Tierversuch (über die C. Scholten an anderer Stelle berichten wird) gelangten nicht die freien Sulphydriole, sondern deren Zimtsäureester bzw. Äthyl-, Benzyl- und Cinnanmyl-thioäther²⁾.

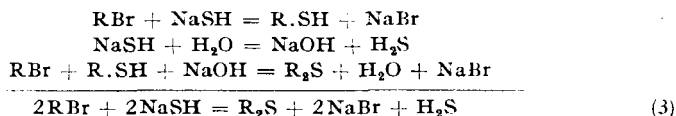
Bei der Darstellung der Mercaptane entsprechend der Gleichung



fanden wir die Angabe von L. M. Ellis und E. E. Reid³⁾ bestätigt, daß es nötig ist, die Umsetzung der höhermolekularen Alkylbromide (z. B. Olein- oder Chaulmoogrylbromid) in absolut trockener Lösung vorzunehmen. Andernfalls entstehen Dialkylsulfide (R_2S) neben nur wenig Mercaptan. Diese Reaktionsabweichung kommt offenbar durch Umsetzung von Alkylbromid mit Mercaptan zustande, nach der Gleichung:



Tatsächlich erhielten wie aus einem äquimolaren Gemisch von Oleinbromid, Oleinmercaptan und Natriumäthylat in siedendem Alkohol mit guter Ausbeute Dioleinthioäther vom Schmp. 43—45°. Die oben erwähnte Bildung von Dialkylsulfiden (Dialkylthioäthern) bei der Umsetzung von Alkylbromid mit NaSH in feuchtem Alkohol ist wahrscheinlich folgendermaßen zu erklären: Wasser spaltet Natriumhydrosulfid in geringem Maße hydrolytisch und die dabei entstandene Natronlauge begünstigt (ebenso wie Alkoholat), durch Entfernung des Bromwasserstoffs die Reaktion 2. Folgende Teilgleichungen veranschaulichen die gesamte Reaktionsfolge:



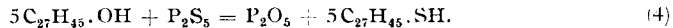
Als echter Katalysator erscheint das Wasser nicht in der Summengleichung 3.

¹⁾ Th. Wagner-Jauregg, Arbeiten aus dem staatl. Institut f. experim. Therapie usw. zu Frankfurt a. M., Heft 39, 1 [1940]; R. Kudicke, Med. Welt 14, 30 [1940]; Th. Wagner-Jauregg, H. Arnold u. H. Hippchen, Journ. prakt. Ch. [N. F.] 155, 216 [1940].

²⁾ Th. Wagner-Jauregg u. R. Voigt, unveröffentlichte Versuche; Th. Lennartz, Dissertat. Frankfurt a. M., erscheint 1941.

³⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 54, 1674 [1932].

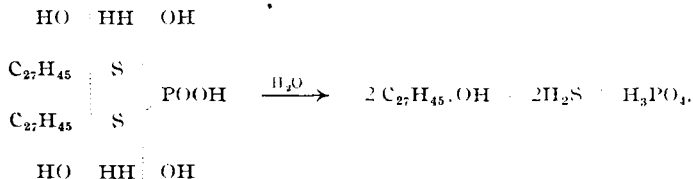
Wir hielten es für angezeigt, auch das Cholesterylthiol für chemotherapeutische Versuche heranzuziehen. E. Montignie⁴⁾ erhielt beim Kochen von Cholesterin mit Phosphorpentasulfid in Schwefelkohlenstoff eine Substanz vom Schmp. 191^o, die er als Thiocholesterin ansah. Die Schwefelung des Sterins wurde nach folgender Gleichung formuliert:



Das angebliche Thiocholesterin ist in siedendem Alkohol oder Äther fast unlöslich, löslich in warmem Benzol und zeigt eine spezif. Drehung von $[\alpha]_D$: -39^o. Es addiert Brom und gibt kein Quecksilbermercaptid; beim Erwärmen mit konz. Schwefelsäure tritt Rotfärbung auf; die Reaktion nach Liebermann ist negativ.

Wir fanden, daß die nach der Methode von Montignie durch Erhitzen von Cholesterin mit einem Überschuß von P_2S_5 erhaltliche Verbindung Phosphor enthält, und zwar entfällt auf 2 Atome Schwefel rund 1 Atom Phosphor. Die Elementaranalyse des gereinigten Produktes steht im Einklang mit der Formel $(C_{27}H_{45}S)_2POOH$ [bzw. $(C_{27}H_{45}S)_2P(OH)_3$ oder $(C_{27}H_{45}S)_2P(OH)_2OP(OH)_2(C_{27}H_{45}S)_2$ ⁵⁾]. Die Verbindung von Montignie, die als „Thiocholesterin“ auch in die referierende Literatur aufgenommen wurde⁶⁾, ist demnach ein Dithiocholesterylphosphat. Sie steht chemisch dem Dicholesterylphosphat von H. v. Euler und Mitarbb.⁷⁾ nahe, das bei 204^o schmilzt und ähnliche Löslichkeitseigenschaften besitzt.

Das Dithiocholesterylphosphat ist sowohl alkalisch als auch sauer schwer verseifbar, und es war uns nicht möglich, daraus durch Hydrolyse Thiocholesterin zu gewinnen. Bei Spaltung mit wäßrig-alkoholischer *p*-Toluolsulfonsäure entsteht nur Cholesterin unter gleichzeitiger Entwicklung von Schwefelwasserstoff. Die Verseifung verläuft demnach wohl vorwiegend nach dem Schema:



Um das Thiocholesterin zu erhalten, erhitzen wir ferner Cholesterylbromid mit NaSH in alkoholischer Lösung zum Kochen, konnten aber keine Umsetzung feststellen. Der Cholesteryl-*p*-toluolsulfonsäureester lieferte bei der gleichen Behandlung ein öliges Produkt, das Thiol enthielt, wie die Bildung eines gelben Mercaptides beim Behandeln mit Bleiacetat zeigte. Ein kristalli-

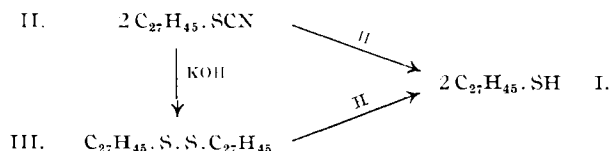
⁴⁾ Bull. Soc. chim. France [4] **49**, 73 [1931].

⁵⁾ Wir werden über die Phosphorsäureester des Thiocholesterins später ausführlicher berichten (gemeinsam mit H. Kothny); s. a. Th. Lennartz, Dissertat. Frankfurt a. M. 1941.

⁶⁾ Abderhalden, Biochem. Handlexikon **14**, 813 [1933].

⁷⁾ B. **60**, 1724 [1927]; **62**, 2455 [1929]; R. H. A. Plimmer u. W. J. N. Burch, Journ. chem. Soc. London **1929**, 279.

siertes Mercaptan ließ sich aber aus dem Reaktionsgemisch nicht isolieren. Schließlich gelang es uns, durch Reduktion des Cholesterylrhodanides⁸⁾ (II) mit amalgamiertem Zink in saurer Lösung das Cholesterylthiol (I) herzustellen. Dieses entsteht auch aus dem Dicholesteryldisulfid (III) durch Reduktion nach Clemmensen. Das Disulfid ist aus dem Rhodanid durch Alkalinwirkung erhältlich:



Das Thiocholesterin (I) schmilzt bei 99.5°⁹⁾, ist in den gebräuchlichen organ. Lösungsmitteln beim Erwärmen, oder schon in der Kälte löslich und gibt die charakteristischen Reaktionen der Mercaptane: positive Nitroprussidreaktion und ein gelbes Blei- und Mercurimercaptid. Es ist linksdrehend $[\alpha]_{\text{D}}: -23.95^{\circ}$ und gibt eine positive Reaktion nach Liebermann-Burchard.

Beim Erhitzen des Thiols mit Zimtsäurechlorid in Xylol entsteht das Cinnamoyl-thiocholesterin, das bei 141—142° zu einer trüben Masse schmilzt, die bei 224—226° klar wird. Dieser Thioester zeigt demnach ebenso wie der Zimtsäureester des Cholesterins, den R. Voigt¹⁰⁾ nach dem gleichen Verfahren darstellte, im Schmelzfluß die Erscheinung der flüssigen Krystalle. Der Chaulmoograsäureester des Thiocholesterins, der durch Umsetzung von Chaulmoograsäurechlorid mit dem Thiol erhältlich ist, schmilzt bei 67—69°, nur 1° tiefer als der entsprechende Cholesterinester¹¹⁾. Bringt man das Natriumsalz des Cholesterylthiols in Alkohol mit Benzylbromid zur Reaktion, dann erhält man Benzyl-cholesteryl-thioäther vom Schmp. 98.5°.

Das mitgeteilte Verfahren zur Darstellung des Thiocholesterins wird sich sinngemäß auf andere Sterine und Steroide übertragen lassen. Es dürfte von Interesse sein, die physiologischen Eigenschaften und Wirkungen geschwefelter Sterine kennenzulernen. Über die chemotherapeutische Prüfung des Thiocholesterins und seiner oben angeführten Derivate werden wir später berichten.

⁸⁾ Th. Wagner-Jauregg, H. Arnold u. H. Hippchen, Journ. prakt. Chem. [N. F.] **155**, 216 [1940].

⁹⁾ Alle Schmelzpunkte unkorrigiert.

¹⁰⁾ Dissertat., Universität Frankfurt a. M. 1939. Das Cinnamoylcholesterin schmilzt bei 158—160° zu einer milchig-trüben, rötlich schimmernden, intensiv hellgrün fluoreszierenden Masse; gegen 200° verblaßt die Fluoreszenz und wird hellbläulich; zwischen 205—209° entsteht eine klare Schmelze. Dieser Ester bildet sich nach E. Montignie, Bull. Soc. chim. France [4] **45**, 721 [1929] neben anderen Produkten auch beim Erhitzen von Zimtsäure und Cholesterin auf 200°.

¹¹⁾ I. G. Farbenindustrie A.-G., Dtsch. Reichs-Pat. 596594 (C. **1934** II, 804).

Beschreibung der Versuche.

Thiocholesterin.

a) Aus Cholesteryl-rhodanid.

1) Cholesteryl-rhodanid (II): 60 g Cholesteryl-bromid werden mit 334 g NaSCN + 2H₂O in 2.1 l 99-proz. Alkohol 68 Stdn. zum Sieden erhitzt. Im Eisschrank 48 Stdn. der Krystallisation überlassen und einmal aus 99-proz. Alkohol umkrystallisiert. Im Vak. über P₂O₅ bei 78° getrocknet. Schnmp. 129°. Ausb. 65–70% d. Theorie.

$$[\alpha]_D^{20} \text{ (Chloroform): } -0.11^\circ \times 100/1.0025 \times 1 = -10.97^\circ.$$

In der Kälte löslich in Äther, Chloroform, Benzol, Essigester, in der Wärme in Alkohol, Aceton, Eisessig, schwerlöslich in Methanol. Positive Liebermann-Burchard-Reaktion.

2) Thiocholesterin (I): In einem 2 l-Kolben läßt man 215 g einer 5-proz. Quecksilber II-chlorid-Lösung während 1 Stde. auf 50 g Zinkwolle unter häufigem kräftigen Umschütteln einwirken, gießt ab und spült einmal kurz mit Wasser. Man gibt 310 g Salzsäure (1 Tl. 36-proz. Salzsäure, d 1.19, + 2 Tle. Wasser) und 15 g Cholesteryl-rhodanid in 120 ccm Toluol gelöst hinzu und erhitzt zum Sieden. Nach 24 Stdn. läßt man 40 ccm 36-proz. Salzsäure zufließen, erhitzt weitere 24 Stdn. und gibt noch 20 ccm 36-proz. Salzsäure hinzu. Nach weiterem 12-stdg. Erhitzen wird vom etwa noch ungelösten Zink abgossen, die wäßrige Säure abgetrennt und die Toluol-Lösung noch einmal mit 50 g amalgamiertem Zink und Säure in der beschriebenen Weise 60 Stdn. zum Sieden erhitzt. (Gesamtdauer: 5 Tage.) Nach dem Erkalten wird mit Äther aufgenommen, die ätherische Lösung gründlich mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rückstand — eine farblose bis blaßgelblich gefärbte Schmelze, die beim Erkalten in strahlenförmig angeordneten Nadelbüscheln krystallisiert —, wird in 400 ccm 99-proz. siedenden Alkohol gelöst und Wasser bis zur bleibenden schwachen Trübung zugespritzt. Beim Erkalten Ausscheidung farbloser, glänzender, dünner Plättchen, die nach nochmaligem Umkrystallisieren und Trocknen bei 99.5° schmelzen. Kalt löslich in Petroläther (Sdp. 50°), Äther, Chloroform, Essigester, in der Wärme in Aceton, Benzol, Pyridin, schwach verdünntem bis absolutem Alkohol, Eisessig. Krystallisiert aus Alkohol, Eisessig (und aus viel Methanol). Ausb. 80–90% der Theorie.

$$[\alpha]_D^{20} \text{ (Chloroform): } -0.24^\circ \times 100/1.006 \times 1 = -23.85^\circ.$$

C₂₇H₄₆S (402.38). Ber. C 80.52, H 11.52, S 7.97. Gef. C 80.39, 80.30, H 11.65, 11.40, S 8.16.

Positive Liebermann-Burchard-Reaktion. Gelbfärbung mit Tetranitromethan in Chloroform.

Die Reinigung des Thiocholesterins ist auch über ein Mercaptid möglich. Man fällt in Aceton-Lösung mit Bleiacetat in 70-proz. Alkohol. Das gelbe Pb-mercaptid wird in Äther gelöst (auch in Benzol farblos löslich), mit H₂S entbleit, und aufgearbeitet wie oben.

b) Aus Dicholesteryl-disulfid:

1. Dicholesteryl-disulfid (III): 2.5 g Cholesteryl-rhodanid werden mit 0.54 g Natrium in 50 ccm absol. Alkohol 7 Stdn. zum Sieden erhitzt.

Nach dem Erkalten wird mit Wasser verdünnt, mit 2-n. HCl angesäuert, mit Äther-Benzol (2:1) ausgeschüttelt, die Äther-Benzol-Lösung mit Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, im Vak. eingedampft. Der Rückstand, eine farblose krystalline Substanz, wird zur Entfernung von gebildetem Thiol und unverändertem Rhodanid mit 99-proz. Alkohol ausgekocht. Der im Alkohol unlösliche Rückstand wird aus Essigester umkrystallisiert. Nach dem Trocknen im Vak. über P_2O_5 bei 100° Schmp. 144.5° . Ausb. 1.3 g (55% d. Th.).

$$[\alpha]_D \text{ (Chloroform)}: -1.12^\circ \times 100/2.3401 \times 2 = -41.78^\circ.$$

$$(\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{S})_2 \text{ (802.75)}. \text{ Ber. S 7.99. Gef. S 8.28.}$$

Positive Liebermann-Burchard-Reaktion. Gelbfärbung mit Tetranitromethan in Chloroform. Löslich in Äther, Benzol, Chloroform, Essigester, Dioxan. Unlöslich in Methanol, schwer löslich in Äthanol und Propanol. Krystallisiert aus Essigester oder Dioxan.

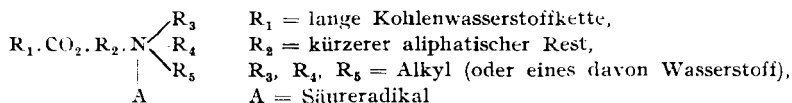
Die Gewinnung von Dicholesteryl-disulfid aus dem Rhodanid wurde auch mit KOH in verd. Alkohol sowie durch längere Behandlung mit wasserfreiem K_2CO_3 in siedendem Amylalkohol durchgeführt.

2. Thiocholesterin (I): 0.9 g Dicholesteryl-disulfid werden mit amalgamiertem Zink und Salzsäure in Toluol behandelt und aufgearbeitet wie unter a) beschrieben. Ausb. 0.6 g (66% d. Th.), Schmp. 99.5° .

$$[\alpha]_D \text{ (Chloroform)}: -0.49^\circ \times 100/1.0215 \times 2 = -23.95^\circ.$$

Ein Gemisch dieses Thiocholesterins mit einem aus dem Rhodanid dargestellten Präparat zeigt keine Schmelzpunktserniedrigung.

Cholesterin gibt mit Invertseifen vom Typus:



Assoziationsverbindungen, die in Wasser kolloidal löslich sind¹²⁾. Beispielsweise konnten wir durch Schütteln von 1 g Cholesterin mit 100 ccm einer 1-proz. wäßrigen Lösung von Chaulmoogroylcholinbromid $\text{[(CH}_2\text{)}_{12}\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N(CH}_2\text{)}_3\text{Br]}$ eine vollkommen homogene, opaleszierende Lösung herstellen. In einem gleichen Ansatz mit Thiocholesterin an Stelle von Cholesterin blieb jenes ungelöst.

Zimtsäureester des Thiocholesterins.

1.6 g Thiocholesterin werden mit 1.4 g (2 Mol.) Zimtsäurechlorid in 10 ccm absol. Xylol 17 Stdn. im Metallbad auf 150° (außen) erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit Äther aufgenommen, mit 2-n. NaOH durchgeschüttelt, mit Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, im Vak. eingedampft. Der feste braune Rückstand wird 5-mal aus 100 ccm Benzol mit 250 ccm Methanol umgefällt. Farblose, mikrokrystalline Substanz, die nach dem

¹²⁾ P. Baranger u. A., Compt. rend. hebdomadaires Séances Acad. Sciences **203**, 502 [1936]; La Chimica e l'Industria **20**, 363 [1938].

Trocknen bei 100° im Vak. über P₂O₅ bei 141—142° eine trübe Schmelze gibt, welche bei 224—226° klar wird. Ausb. 1.1 g (54% d. Th.).

$[\alpha]_D$ (Chloroform): $-0.20 \times 100/1.004 \times 2 = -9.96^\circ$.

C₃₆H₅₂OS (532.46). Ber. S 6.02. Gef. S 5.85.

Positive Liebermann-Burchard-Reaktion. Löslich in Chloroform, Äther, Aceton, Essigester, Benzol, Dioxan; krystallisiert auch aus verd. Alkohol.

Chaulmoograsäureester des Thiocholesterins¹³⁾.

11.5 g Thiocholesterin werden mit 7.8 g Chaulmoograsäurechlorid in 35 ccm absol. Xylol 17 Stdn. im Stickstoffstrom auf 160° (Metallbad) erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit Äther aufgenommen, mit 2-n. NaOH 2-mal, dann mit Wasser neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Äther-Xylol im Vak. eingedampft. Der rotbraune, flüssige Rückstand wird aus Aceton-Äthanol (1:1), dem bis zur Trübung Wasser zugefügt wird, 3-mal umkrystallisiert. Farblose, keilförmige Krystalle, die unter dem Mikroskop zwischen gekreuzten Nicols gerade Auslöschung zeigen. Bei Zimmertemperatur im Hochvak. (0.1 mm) über P₂O₅ getrocknet. Ausb. 7.4 g (41% d. Th.). Schmp. 67—69°. Löslich in Essigester, Chloroform, Benzol, Aceton, Pyridin, Dioxan, schwerer in Alkohol, schwer in Methanol.

$[\alpha]_D$ (Chloroform): $-0.19 \times 100 \cdot 1.024 \times 2 = -9.28^\circ$.

C₄₅H₇₆OS (664.61). Ber. C 81.25, H 11.52, S 4.82. Gef. C 81.42, H 11.56, S 5.03.

Benzyl-thiocholesterin-äther.

Zu 0.5 g Natrium in 20 ccm absol. Alkohol gibt man 2.5 g Thiocholesterin, das durch Erwärmen in 45 ccm absol. Alkohol gelöst ist, dann 1.05 g Benzylbromid und erhitzt 48 Stdn. unter Rückfluß. Nach dem Erkalten wird mit Wasser verdünnt, mehrmals ausgeäthert, die äther. Lösung mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, mit Tierkohle entfärbt, filtriert und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Alkohol-Aceton (2:1) 2-mal umkrystallisiert. Farblose, lange Nadeln, die bei 56° im Vak. über P₂O₅ getrocknet wurden. Ausb. 70—75% d. Th., Schmp. 98.5°. Löslich in Benzol, Chloroform, Essigester, Aceton und in viel Alkohol, schwer löslich in Methanol.

Positive Liebermann-Burchard-Reaktion.

$[\alpha]_D$ (Chloroform): $-0.64 \times 100/1.0095 \times 2 = -31.7^\circ$.

C₃₄H₅₂S (492.46). Ber. S 6.51. Gef. S 6.52.

Der Firma C. H. Boehringer Sohn, Nieder-Ingelheim a. Rh., danken wir für die Überlassung von 500 g Cholesterin.

¹³⁾ Den Hydnocarpussäureester des Thiocholesterins \square (C₁₇H₂₀)₁₀ · CO · S · C₂₇H₄₅ erhielten wir auf gleiche Weise mit 48% Ausbeute. Schmp. 63—65°. $[\alpha]_D$ (Chloroform): -10.71° .