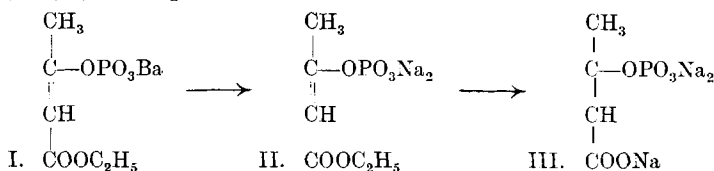


Daraus lässt sich das in Wasser leicht lösliche Natriumsalz (II) durch Umsatz mit Soda, Natriumsulfat oder Natriumoxalat darstellen und aus letzterem wird durch Verseifung mit der berechneten Menge Natronlauge das Trinatriumsalz des Acetessigsäure-O-phosphorsäure-esters (III) (nicht ganz rein) erhalten.



Die Verbindung III zerfällt beim Erhitzen mit verdünnter Säure unter Bildung von Acetessigsäure bzw. Aceton. Nierenphosphatase spaltet aus ihr leicht die Phosphorsäuregruppe ab ($p_H = 9$).

Die Untersuchung des Acetessigsäure-O-phosphorsäure-esters wird nach verschiedenen Richtungen fortgeführt.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

14. Sexualhormone XI¹).

Partielle Verseifung von Di-estern des Androstan-3-cis, 17-trans-diols sowie dessen partielle Veresterung. Beiträge zur Spezifität der Sexualhormonwirkung

von L. Ruzicka und M. W. Goldberg.

(30. XII. 35.)

Die Bereitung von Mono-estern der Androstan-diole (I trans bzw. II cis²) war von Interesse, einmal um solche Verbindungen physiologisch prüfen zu können³), und dann waren sie als Ausgangsstoffe für die Herstellung neuer Androstan-derivate erwünscht.

Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass bei der partiellen Verseifung des Di-acetats vom trans- $\Delta^{5,6}$ -Androsten-3,17-diol in allerdings schlechter Ausbeute das 17-Mono-acetat gebildet wird⁴). Es war daher überraschend, dass bei der partiellen Verseifung des Di-acetats vom cis-Androstan-3,17-diol⁵) (II) das 3-Acetat gebildet wurde. Dieses Mono-acetat war nach der Mischprobe identisch mit dem schon früher⁵) bei der katalytischen Hydrierung von Andro-

¹) X. Mitt. Helv. **18**, 1487 (1935).

²) Die Verwendung von „trans“ oder „cis“ allein, bei diesen und einigen folgenden Verbindungen, bezieht sich immer auf die vermutliche räumliche Stellung des 3-Hydroxyls.

³) Vgl. z. B. Helv. **18**, 210 (1935).

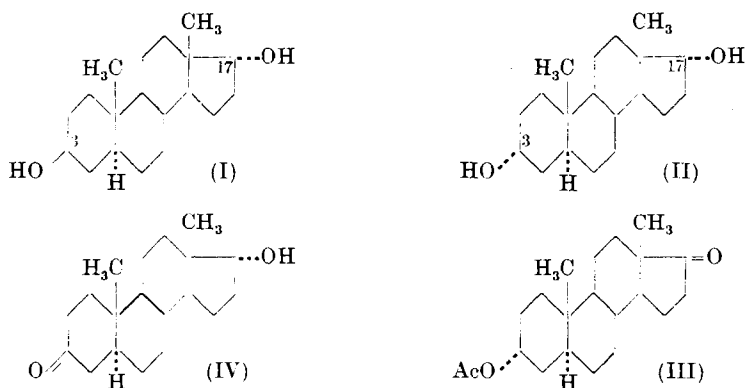
⁴) Helv. **18**, 1264, 1478 (1935).

⁵) Helv. **18**, 217—218 (1935).

steron-acetat (III) erhaltenen Präparat. Zur völligen Sicherstellung der Konstitution haben wir das durch partielle Verseifung gewonnene Präparat mit Chromsäure zu Androsteron-acetat oxydiert.

Das verschiedene Verhalten des 3-cis- und des ungesättigten 3-trans-Derivats veranlasste uns u. a. auch die partielle Verseifung des Di-acetats des trans-Androstan-3,17-diols¹⁾ (I) zu untersuchen. Diese Umsetzung ist inzwischen auch von *Butenandt*, *Tscherning* und *Hanisch*²⁾ ausgeführt worden, die dabei das 17-Mono-acetat isolieren konnten.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der Untersuchung der Verseifungsgeschwindigkeit von Cholestanol- sowie von epi-(cis-) Cholestanol-estern³⁾, die eine grössere Reaktionsfähigkeit der Cholestanol-ester, also der Isomeren mit trans-ständigem 3-Hydroxyl ergaben. Die Verseifungsgeschwindigkeit der Acetoxygruppe in 17 steht nun anscheinend gerade in der Mitte zwischen denen der 3-cis- und der 3-trans-Acetoxygruppe, so dass die Isolierung des 3-cis-Acetats und des 17-Acetats bei den oben geschilderten partiellen Verseifungen möglich war. Da aber die relativen Unterschiede nicht besonders gross sind, waren die Ausbeuten an reinem Mono-acetat in allen Fällen recht geringe.



Es war zur Erzielung guter Ausbeuten an einem 17-Ester des trans- $\Delta^{5,6}$ -Androsten-3,17-diols ausschlaggebend, einen solchen gemischten Diester partiell zu verseifen, welcher in 17 eine an sich schwerer verseifbare Estergruppe aufweist⁴⁾ als in 3. Wir gingen daher dazu über, diese Erfahrungen beim cis- und trans-Androstan-3,17-diol anzuwenden. Vorläufig können wir das in der cis-Reihe erhaltene Resultat mitteilen. Bei dem schon oben erwähnten 3-

¹⁾ Helv. **18**, 1497 (1935).

²⁾ B. **68**, 2097 (1935).

³⁾ *Vavon* und *Jakubowicz*, Bl. [4] **53**, 581 (1933).

⁴⁾ Helv. **18**, 1478 (1935).

Mono-acetat des cis-Androstan-3,17-diols haben wir in 17 die Benzoylgruppe eingeführt. Bei der partiellen Verseifung des 3-Acetat-17-benzoats konnten wir das 17-Mono-benzoat in reiner Form isolieren, haben aber Anhaltspunkte dafür erhalten, dass daneben auch das 3-Mono-acetat entstanden war¹⁾. Es ist daher zu erwarten, dass man bessere Ausbeuten an einem gesättigten 17-Mono-ester durch partielle Verseifung des trans-Androstan-3,17-diol-3-acetat-17-benzoats wird erreichen können²⁾.

Inzwischen haben wir auch die Untersuchung der partiellen Veresterung der beiden Diole (I und II) begonnen und teilen hier die Ergebnisse mit dem 3-cis-Isomeren (II) mit. Sowohl beim Erhitzen desselben mit 90-proz. Essigsäure, wie auch bei der Umsetzung mit Acetanhydrid in Pyridinlösung, konnte erwartungsgemäss das 17-Mono-acetat in recht guter Ausbeute erhalten werden, welche die bisher bei den partiellen Verseifungen der cis- und trans-Di-acetate erhaltenen um das doppelte bis dreifache übertrifft.

Da die Reaktionsfähigkeit des Substituenten in 17 zwischen der des 3-trans- und des 3-cis-ständigen liegt, wird man zur Annahme veranlasst, dass sich das 17-Hydroxyl bei obigen Verbindungen in trans zum benachbarten Methyl befindet. Die cis-Stellung letzterer beider Gruppen kommt kaum in Betracht, da sonst der 17-Substituent reaktionsträger sein sollte als der in 3-cis-ständig gebundene, der keine „sterisch hindernde“ Gruppe in direkter Nachbarstellung aufweist.

Das aus Androsteron bereitete Diol II wäre somit als Androstan-3-cis, 17-trans-diol zu bezeichnen, und das vom trans-Androsteron sich ableitende Diol I als Androstan-3-trans,17-trans-diol. Wir heben noch hervor, dass die Zuteilung der räumlichen Stellung des Substituenten in 17 sicherer zu sein scheint als die des 3-ständigen³⁾.

Sowohl das 17-Mono-acetat als auch das 17-Mono-benzoat des cis-Diols wurden mit Chromsäure zur 3-Ketoverbindung oxydiert, die bei der Verseifung das Androstan-3-on-17-ol (IV), ein Isomeres des Androsterons lieferten⁴⁾. Diese Verbindung ist von besonderem Interesse, da sie das Dihydro-testosteron vorstellt. Nach vorläufigen Versuchen von *E. Tschopp* (Biol. Laboratorium der *Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel*) liegt bei Anwendung seines Testierungsverfahrens an Kapaunen eine Hahnenkammeinheit bei etwa 15 γ ;

¹⁾ Vgl. dazu die genaueren Angaben im experimentellen Teil.

²⁾ Vgl. darüber eine spätere Abhandlung.

³⁾ Vgl. dazu *Helv.* **18**, 61 (1935).

⁴⁾ Diese Verbindung haben inzwischen auch *Butenandt*, *Tscherning* und *Hanisch*, *B.* **68**, 2098 (1935) durch Oxydation des trans-Androstan-3,17-diol-17-acetats erhalten.

die Dihydroverbindung ist also erwartungsgemäss etwas weniger wirksam als Testosteron (1 HKE etwa 9 γ). Da über die Wirksamkeit des Dihydro-testosterons wie auch des kürzlich beschriebenen 17-Methyl-testosterons¹⁾ am Sexualtrakt kastrierter Rattenmännchen schon einigermaßen gesicherte vorläufige Resultate vorliegen (Durchschnittswerte von mindestens 5 Tieren), möchten wir die Reihenfolge im Hahnenkamm- und im Rattentest der 6 bisher wirksamsten Androstanderivate tabellarisch angeben.

Die folgende kleine Tabelle ist eine Ergänzung unserer ausführlichen Tabelle 1 in Helv. **18**, 1490 (1935). Auch die Formelnummern beziehen sich auf die in jener Abhandlung gebrauchten. Die noch nicht veröffentlichten Angaben über die Gewichte der einzelnen Sexualdrüsen werden später in anderem Zusammenhange mitgeteilt werden.

Formelnummer	Bezeichnung	Reihenfolge im	
		Hahnenkammtest	Rattentest
A II	Testosteron	1	2
A III	17-Methyl-testosteron	3—5	1
B II	Dihydro-testosteron (Androstan-3-on-17-ol)	3—5	4
B III	17-Methyl-androstan-3-on-17-ol . . .	2	3
E II	Androstan-3-cis, 17-trans-diol	3—5	7 ²⁾
E III	17-Methyl-androstan-3-cis, 17-diol . .	6—7	5

Während im Hahnenkammtest einmal die in 17 methylierte Verbindung (B III) sonst aber die analoge Verbindung ohne Methyl stärker wirkt³⁾, erscheint im Rattentest bisher ausnahmslos die 17-methylierte Verbindung als die wirksamere. Aber von besonderer Bedeutung ist die Tatsache, dass *das in der Natur bisher nicht beobachtete und wohl auch als Naturkörper unwahrscheinliche 17-Methyl-testosteron am Sexualtrakt noch wirksamer ist als das bisher wirksamste natürliche männliche Hormon, Testosteron.*

Sowohl nach diesem Ergebnis wie auch den früheren ausführlichen Übersichten⁴⁾ über die bisher bekanntgewordenen Verbindungen mit männlicher Hormonwirkung folgt die geringe Spezifität des chemischen Baus derselben. Es hat sich neuerdings sogar

¹⁾ Helv. **18**, 1495 (1935). Die erste Angabe über die Wirkung im Rattentest wurde an der Chemiedozententagung in Basel, 7. Dezember 1935. gemacht. Vgl. das Referat in Z. angew. Ch. **49**, 287(1936).

²⁾ Die Reihenzahl 6 kommt dem Androsten-3,17-dion (Formelnummer A I in Helv. **18**, 1489—90) zu.

³⁾ Erwähnenswert ist die annähernd gleiche Wirksamkeit des 17-Methyl-trans-androstan-diols und des trans-Androstan-diols im Hahnenkammtest, Helv. **18**, 1490 (1935).

⁴⁾ E. Tschopp, Arch. internat. Pharmacodyn. et Thérapie, **1936**, 476 (eingesandt 12. XI. 1935).

herausgestellt, dass es *Verbindungen* gibt, denen *gleichzeitig starke*¹⁾ *männliche und weibliche Sexualhormonwirkung* zukommt. *E. Tschopp*²⁾³⁾ stellte fest, dass sowohl *Δ^{5,6}-Androsten-3-trans,17-trans-diol* (C II in Helv. **18**, 1489—90) *wie auch das 17-Methylderivat desselben* (C III) in einer Gesamtdosis von 4 mg bei kastrierten Ratten im *Allen-Doisy-Test* völlig positive Brunstreaktionen und bei juvenilen Ratten vorzeitige Öffnung der Vagina bewirkt nebst Uterusverdickung.

Der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil⁴⁾.

Partielle Verseifung des Di-acetats des Androstan-3-cis, 17-trans-diols.

643 mg des Diol di-acetats⁵⁾ wurden in 170 cm³ 99-proz. Alkohol gelöst und mit 5 cm³ einer alkoholischen Kalilauge versetzt, die 96 mg Kaliumhydroxyd (1 Mol) enthielten. Man liess 40 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, erwärmte 9 Stunden auf 50°, liess nochmals 15 Stunden stehen, erwärmte zum Schluss wieder 8 Stunden auf 50° und arbeitete nach weiterem 20-stündigem Stehen auf. Nach dem Zufügen von 200 cm³ Wasser und Verdunsten des Alkohols im Vakuum bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur wurde die ausgefallene Substanz filtriert und aus wässrigem Alkohol umkrystallisiert. Da das Präparat nach dem Trocknen unscharf schmolz (Beginn des Sinterns bei etwa 160° und klare Schmelze bei etwa 200°) wurde dieselbe mit Hexan ausgekocht. Der in Hexan schwerlösliche Anteil (280 mg) war praktisch reines cis-Androstan-diol vom Smp. 220° (die Mischprobe zeigt keine Depression). Der aus der konzentrierten Hexanlösung abgeschiedene Anteil wurde aus wässrigem Methanol mehrmals umkrystallisiert und schmolz dann bei 183—184°. Mit dem bei der gleichen Temperatur schmelzenden und gleichfalls in Blättchen krystallisierenden 3-cis-Acetoxy-17-trans-oxy-androstan⁶⁾ trat keine Depression des Schmelzpunkts ein.

Zur weiteren Charakterisierung wurde dieses Mono-acetat in Eisessiglösung bei Zimmertemperatur mit 1 Mol Chromtrioxyd oxydiert⁷⁾. Nach dem Umkrystallisieren des Reaktionsproduktes

¹⁾ *Butenandt* und *Kudszus*, Z. physiol. Ch. **237**, 82 (1935) erwähnen, dass das an der Vagina infantiler Ratten wirksame Androsten-3,17-dion bei der kastrierten Maus in einer Gesamtdosis von 2 mg noch keinen Oestrus erzeugt. Das Dion muss also in seiner Wirksamkeit als weibliches Hormon beträchtlich hinter der des Androsten-3,17-diols liegen. Ferner erwähnt *Parkes*, Chem. and Ind. **1935**, 923, ohne nähere Angaben die oestrogene Wirkung von Androstandiol und 17-Methyl-androstan-17-ol-3-on.

²⁾ *E. Tschopp*, Arch. internat. Pharmacodyn. et Thérapie **1936**, 476 (eingesandt 12. XI. 1935).

³⁾ *Praxis*, **24**, 698 (1935).

⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁵⁾ Helv. **18**, 217 (1935), Smp. 162°.

⁶⁾ Helv. **18**, 218 (1935).

⁷⁾ Vgl. die Vorschrift in Helv. **18**, 1495 (1935).

aus Methanol erhielt man bei 164—165° schmelzende Nadeln, die mit dem bei der gleichen Temperatur schmelzenden Androsteron-acetat¹⁾ keine Depression des Schmelzpunktes zeigen.

Partielle Veresterung des Androstan-3-cis, 17-trans-diols (II).

a) Mit 90-proz. Essigsäure. 1 g cis-Androstan-diol vom Smp. 223° wurde in 50 cm³ 90-proz. Essigsäure 5 Stunden am kochenden Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser verdünnt und das Reaktionsprodukt mit Äther ausgezogen. Die Ätherlösung wurde mit Wasser und Sodalösung gewaschen und eingedampft. Den Rückstand kochte man mit Benzin (Sdp. 70—80°) aus, wobei 450 mg unverestertes Diol ungelöst blieben. Die Benzinlösung wurde durch Verdampfen eingeengt. Das nach dem Erkalten ausgefallene Acetatgemisch krystallisierte man mehrmals aus wässrigem Methanol um, wonach man das bei 191—192° schmelzende 17-Acetat erhielt.

3,382 mg Subst.	gaben 9,38 mg CO ₂ und 3,10 mg H ₂ O	
C ₂₁ H ₃₄ O ₃	Ber. C 75,38	H 10,26%
	Gef. „ 75,64	„ 10,26%

Diese Substanz gibt mit dem bei 183° schmelzenden 3-Acetat eine starke Schmelzpunktsdepression. Aus den Mutterlaugen erhielt man ein sehr schwer trennbares Gemisch, aus dem noch geringe Mengen Diol gewonnen werden konnten.

b) In Pyridin mit Acetanhydrid. 610 mg Diol wurden in 5 cm³ trockenem Pyridin gelöst und mit 260 mg Acetanhydrid (1,2 Mol) versetzt. Nach 17-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur verdünnte man mit Wasser und zog das Reaktionsgemisch mit Äther aus. Die Ätherlösung wurde mit Wasser, Salzsäure und Sodalösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Beim Auskochen des Rückstands mit Benzin blieben etwa 90 mg Diol als schwerlöslicher Anteil zurück. Aus der Benzinlösung krystallisierten beim Abkühlen 190 mg rohes Mono-acetat aus, das schon nach einmaligem Umlösen aus wässrigem Methanol praktisch rein war und mit dem nach *a* gewonnenen Produkt keine Schmelzpunktsdepression zeigte. Nach dem Eindampfen der Benzinmutterlauge krystallisierte man den Rückstand aus Benzin und wenig Äther um, wobei man eine weitere Menge Mono-acetat erhielt. Im ganzen wurden 210 mg 17-Acetat gewonnen.

Androstan-3-on-17-trans-ol (IV).

245 mg cis-Androstandiol-17-mono-acetat wurden in 6 cm³ Eisessig gelöst und mit 73 mg Chromtrioxyd (= 1,5 Atome Sauerstoff), gelöst in 7 cm³ Eisessig, versetzt. Man liess über Nacht bei Zimmer-

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

temperatur stehen, verdünnte mit Wasser, nahm in Äther auf, wusch die ätherische Lösung mit Sodalösung und dampfte sie ein. Der krystallisierte Rückstand wurde aus Benzin (Sdp. 70—80°) umgelöst, wobei man das bei 158° schmelzende Keto-acetat erhielt, das bei weiterem Umkrystallisieren seinen Schmelzpunkt nicht mehr änderte.

4,270; 3,713 mg Subst. gaben 11,91; 10,35 mg CO₂ und 3,61; 3,15 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₂ O ₃	Ber. C 75,84	H 9,72%
	Gef. „ 76,07; 76,02	„ 9,46; 9,49%

Verseifung. Das Keto-acetat wurde durch 4-stündiges Kochen mit 2,5-proz. methylalkoholischer Kalilauge verseift. Nach dem Eindampfen, Versetzen mit Wasser und Aufnehmen in Äther wurde die ätherische Lösung stark eingeeengt, wobei das Oxyketon auskrystallisierte. Der bei 177° liegende Schmelzpunkt stieg nach Umkrystallisieren aus Benzin-Essigester auf 179—180°. Mit dem einige Grade höher schmelzenden Androsteron tritt starke Depression des Schmelzpunktes ein.

Zur Analyse wurde das Präparat bei 135° Badtemperatur (0,01 mm) sublimiert, wonach es bei 180—181° schmolz.

3,542 mg Subst. gaben 10,21 mg CO₂ und 3,22 mg H₂O

C ₁₉ H ₃₀ O ₂	Ber. C 78,56	H 10,41%
	Gef. „ 78,62	„ 10,17%

Androstandiol-3-cis-acetat-17-trans-benzoat.

2,4 g cis-Androstandiol-3-acetat wurden mit 10 cm³ trockenem Pyridin und 2 g Benzoylchlorid 1½ Stunden am kochenden Wasserbade erwärmt. Das Reaktionsgemisch goss man in heisses Wasser, nutschte die ausgefallenen Krystalle ab und wusch sie mit Wasser. Zur Reinigung verrieb man das Produkt zweimal mit Methanol. Die so erhaltenen 2,75 g Acetat-benzoat waren schon fast rein und schmolzen bei 195—197°. Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol steigerte den Schmelzpunkt auf 198—199°. Zur Analyse wurde bei 110° (0,01 mm) getrocknet.

4,048 mg Subst. gaben 11,39 mg CO₂ und 3,17 mg H₂O

C ₂₈ H ₃₈ O ₄	Ber. C 76,66	H 8,74%
	Gef. „ 76,74	„ 8,76%

Partielle Verseifung des Androstandiol-3-cis-acetat-17-trans-benzoats.

2,75 g Acetat-benzoat wurden fein verrieben und in 300 cm³ Methanol suspendiert. Man fügte 350 mg Kaliumhydroxyd in 17 cm³ Alkohol zu und erwärmte an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 8 Stunden auf 45—50°, wobei das anfänglich grossenteils ungelöste Produkt allmählich in Lösung ging. Die alkoholische Lösung kühlte man auf -10° ab und nutschte das fast 1 g betragende unverseifte Acetat-benzoat ab. Das Filtrat wurde mit Wasser verdünnt; den

ausgefallenen Niederschlag nahm man in Äther auf. Die Ätherlösung wurde eingedampft, und den Rückstand kochte man mit Benzin (Sdp. 70—80°) aus. Aus der erkalteten Lösung schied sich ein bei etwa 180° unscharf schmelzendes Produkt ab, dessen Schmelzpunkt sich beim Umlösen aus Benzin nicht viel änderte. Zur weiteren Reinigung wurde mit wenig Methanol verrieben, wonach der Schmelzpunkt sofort auf 202—203° stieg und beim Umkrystallisieren aus Essigester auf 203—204°. Mit dem Acetat-benzoat vom Smp. 198 bis 199° gemischt trat eine starke Depression des Schmelzpunktes ein. Nach der Analyse liegt das 17-Benzoat vor.

3,828 mg Subst. gaben 11,08 mg CO₂ und 3,15 mg H₂O
 $C_{26}H_{36}O_3$ Ber. C 78,73 H 9,16%
 Gef. „ 78,94 „ 9,21%

Aus den Löslichkeitseigenschaften des Gemisches der Verseifungsprodukte kann man mit ziemlicher Sicherheit schliessen, dass neben dem 17-Benzoat auch das 3-Acetat entstanden war, welches ebenfalls aus Benzin krystallisierbar und in Methanol gut löslich ist. Auch das Auftreten von Benzoesäure-ester bei der partiellen Verseifung spricht für eine Bildung des 3-Acetats.

Oxydation. 250 mg cis-Androstandiol-17-benzoat wurden in 10 cm³ Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 63 mg Chromtrioxyd (= 1,5 Atome Sauerstoff) in 6,3 cm³ Eisessig versetzt. Man liess über Nacht bei Zimmertemperatur stehen, verdünnte dann mit Wasser, nahm das Reaktionsprodukt in Äther auf, wusch die Lösung und dampfte sie auf ein kleines Volumen ein, wonach das 3-Keto-17-benzoat auskrystallisierte. Der bei 199—200° liegende Schmelzpunkt konnte durch Umkrystallisieren aus Benzin-Essigester auf 200—201° gesteigert werden.

3,697 mg Subst. gaben 10,76 mg CO₂ und 2,93 mg CO
 $C_{26}H_{34}O_3$ Ber. C 79,13 H 8,70%
 Gef. „ 79,37 „ 8,87%

Mit dem 17-Benzoat des Diols vom Smp. 203—204° trat eine starke Depression des Schmelzpunktes ein.

Beim Kochen mit alkoholischem Kali tritt völlige Verseifung ein. Es konnte dabei das schon oben beschriebene bei 180—181° schmelzende Androstan-3-on-17-ol erhalten werden.

Die Analysen wurden in unserer Mikrochemischen Abteilung (Leitung Dr. M. Furter) ausgeführt.

Zürich, Organisch-chemisches Laboratorium
 der Eidg. Techn. Hochschule.