

oben beschriebenen Monomethylderivat: 1-Aminomethyl-2-methyl-tetrahydro-isoquinolin IX. Ihr Pikrat aus Wasser umkrystallisiert zeigte denselben Schmelzpunkt von 192°, und ein Mischschmelzpunkt mit dem Pikrat der Monomethylbase ergab keine Depression.

Methylierung der freien Base unter Druck.

3 g Base III in 35 cm³ Methylalkohol wurden mit 7 g (3 Mol) Methyljodid und 3,5 g festem Kaliumhydroxyd im Einschmelzrohr während 12 Stunden im siedenden Wasserbade erwärmt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels und des überschüssigen Methyljodids wurde das dickflüssige Reaktionsprodukt in heissem Wasser aufgenommen und nach dem Abkühlen mit Äther extrahiert. Aus der wässrigen Lösung konnten wir durch vorsichtiges Eindampfen das Jodmethylat X der oben beschriebenen trimethylierten Base erhalten. Nach dem Umkrystallisieren aus Wasser zeigte es den Smp. 199°, der Mischschmelzpunkt mit dem oben beschriebenen Jodmethylat lag bei 198°. Aus der ätherischen Lösung wurde ein gelbliches Öl isoliert, das unter 12 mm bei 135° überging; es war also die trimethylierte Base XI entstanden. Das Pikrat hatte den Smp. 202°. Eine Mischung mit dem oben beschriebenen Pikrat zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Basel, Anstalt für organische Chemie.

83. Über Steroide.

(20. Mitteilung)¹⁾

Eine neue Farbreaktion in der Steroidreihe. Beiträge zu ihrem Chemismus

von H. Kägi und K. Miescher.

(I. IV. 39.)

I. Beschreibung der neuen Farbreaktion.

Anlässlich von Versuchen, die beiden 17-epimeren Testosterone unter Zusatz von Bromwasserstoff zu bromieren, wurde die Beobachtung gemacht, dass nur dasjenige mit einer cisoiden Hydroxylgruppe eine Rotfärbung gab. Systematische Untersuchungen zeigten,

¹⁾ Von nun an sollen die Mitteilungen chemischen Inhalts unseres Laboratoriums auf dem Steroidgebiet numeriert werden. Die früheren Arbeiten erhalten danach folgende Nummern: 1. Mitt. Helv. **20**, 263 (1937); 2. Mitt. Bioch. Z. **294**, 39 (1937); 3. Mitt. Helv. **20**, 1237 (1937); 4.—5. Mitt. Chem. and Ind. **57**, 276 (1938); 6.—8. Mitt. Bioch. J. **32**, 141, 725, 1273 (1938); 9.—10. Mitt. Helv. **21**, 336, 1317 (1938); 11. Mitt. Z. angew. Ch. **51**, 551 (1938); 12. Mitt. Bioch. Z. **300**, 14 (1938); 13. Mitt. Chem. and Ind. **58**, 113 (1939); 14.—19. Mitt. Helv. **22**, 112, 120, 155, 158, 184, 250 (1939).

dass zur Auslösung der neuen Farbreaktion ganz allgemein eine Mineralsäure und ein Halogen nötig sind.

Anstelle der Testosterone wurde eine grosse Anzahl anderer Steroide auf das Auftreten dieser Farbreaktion hin geprüft. Dabei stellte es sich heraus, dass mit wenigen Ausnahmen¹⁾ nur solche Substanzen der Steroidreihe positiv reagieren, die am 17-Kohlenstoffatom eine cisoidale Hydroxylgruppe besitzen. Eine kurze Notiz über diese Reaktion ist bereits andersorts²⁾ erschienen. Ihre Ausführung geschieht folgendermassen:

Farbreaktion I auf 17-cisoidale Hydroxylgruppen:

1—2 mg Substanz werden in 1—2 cm³ Eisessig gelöst und nach Zusatz von 1 Tropfen konz. Schwefelsäure während einigen Sekunden gekocht. Nach dem Abkühlen wird langsam tropfenweise eine 1-proz. Lösung von Brom in Eisessig zugefügt. Die Lösung färbt sich intensiv blau bis violett. Es können auch kleinere Mengen als 1 mg cisoider Alkohole nachgewiesen werden, in gewissen Fällen bis zu 10 gamma. Da aber ein Überschuss von Brom die Färbung wieder zerstört, muss man in diesem Fall sehr verdünnte Bromlösungen anwenden und sie sehr vorsichtig zusetzen.

Bei dieser Farbreaktion kann, wie später noch näher ausgeführt wird, das Brom auch durch andere Reagentien ersetzt werden, am besten durch einige Tropfen Essigsäure-anhydrid. Dieses hat den Vorteil, dass ein Überschuss davon nicht sofort die Farbe zerstört; deshalb ist es besonders zum Nachweis ganz geringer Substanzmengen geeignet. Dagegen tritt die Farbe nicht so momentan auf wie mit Brom.

In einigen Fällen ist die Reaktionslösung schon vor dem Bromzusatz schwach gefärbt. Die Farbreaktion gilt nur dann als positiv, wenn auf Zusatz von Brom oder Acetanhydrid hin die Farbe deutlich vertieft wird.

Wie im Abschnitt III über den Chemismus der Farbreaktion dargelegt ist, erfolgt sie unter Abspaltung von Wasser. Bei cisoider Lage der Hydroxylgruppe in 17-Stellung geschieht dies schon unter den milden Bedingungen der Reaktion I. Transoide 17-Hydroxysterioide sollten somit nach energischer Dehydratisierung eine analoge Farbreaktion geben. Dies ist tatsächlich der Fall. In unserer vorläufigen Mitteilung war als wasserabspaltendes Mittel Kaliumbisulfat empfohlen worden. Die damit erhaltenen Resultate sind aber nicht leicht reproduzierbar, da das trockene Erhitzen mit Bisulfat leicht Anlass zur Zerstörung der Substanz gibt. Dagegen gewährt die folgende Modifikation der Farbreaktion stets gleichmässige Resultate:

¹⁾ Siehe hiezu Abschnitt III h.

²⁾ Chemistry and Industry **57**, 276 (1938). Zur Nomenklatur siehe: *K. Miescher* und *W. H. Fischer*, *Helv.* **21**, 336 (1938).

Farbreaktion II auf 17-transoide und -cisoide Hydroxylgruppen:

1—2 mg Substanz werden mit ca. 0,2 cm³ einer Mischung von 1 Vol. Teil Phosphoroxchlorid und 3 Vol. Teilen Chinolin kurze Zeit gekocht. Nach dem Abkühlen löst man in 1—2 cm³ Eisessig, setzt 2—3 Tropfen konz. Schwefelsäure und dann langsam tropfenweise 1-proz. Bromlösung in Eisessig zu. Man erhält so bei 17-transoiden Alkoholen ähnliche Farben wie nach Reaktion I bei den entsprechenden 17-cisoiden Alkoholen. Selbstverständlich geben die letzteren ebenfalls die Farbreaktion II. Das Brom lässt sich auch bei der Reaktion II wie bei der Reaktion I durch andere Reagentien, z. B. Acetanhydrid, ersetzen.

Ist in der zu untersuchenden Substanz die 17-OH-Gruppe verestert, so muss vor Ausführung der Farbreaktion durch Erhitzen mit einigen Tropfen alkoholischer Natronlauge verseift werden. Das zur Trockne gebrachte Verseifungsprodukt wird mit Äther extrahiert und der Ätherrückstand nach den Farbreaktionen I oder II geprüft.

Tabelle 1.

Neue Farbreaktion mit sekundären 17-Alkoholen von Steroiden.

	Reaktion I	Reaktion II
1. Androstan-17 <i>t</i> -ol	—	blau-violett
2. „ -17 <i>c</i> -ol	indigo	indigo
3. „ -3 <i>t</i> -17 <i>t</i> -diol	—	rot-violett
4. „ -3 <i>c</i> -17 <i>t</i> -diol	—	rot-violett
5. „ -3 <i>t</i> -17 <i>c</i> -diol	blau-violett	blau-violett
6. „ -3 <i>c</i> -17 <i>c</i> -diol	blau-violett	blau-violett
7. „ -3-on-17 <i>t</i> -ol (Dihydro- <i>t</i> -testosteron)	—	rot-violett
8. Androstan-3-on-17 <i>c</i> -ol (Dihydro- <i>c</i> -testosteron)	violett	violett
9. Δ^5 -Androsten-3 <i>t</i> -17 <i>t</i> -diol	—	indigo
10. Δ^5 -Androsten-3 <i>t</i> -17 <i>c</i> -diol	violett	violett
11. Δ^4 -Androsten-3-on-17 <i>t</i> -ol (<i>t</i> -Testo- steron)	—	blau-violett
12. Δ^4 -Androsten-3-on-17 <i>c</i> -ol (<i>c</i> -Testo- steron)	blau-rot, orange Fluoreszenz	blau-rot, orange Fluoreszenz
13. Aetio-cholan-3 <i>c</i> -17 <i>t</i> -diol	—	violett
14. 17 <i>t</i> -Oestradiol (α -Oestradiol)	schwach rosa, gelb- grüne Fluoreszenz	Zersetzung
15. 17 <i>c</i> -Oestradiol (β -Oestradiol)	dunkel rosa, gelb- grüne Fluoreszenz	Zersetzung

In Tabelle I sind solche Verbindungen der Steroidreihe aufgeführt, die nach Reaktion I oder II Färbungen ergeben. Sie enthalten alle eine Hydroxylgruppe in 17-Stellung. Nicht nur Derivate der Androstan- bzw. der Aetio-allo-cholanreihe reagieren positiv, sondern auch solche der Aetio-cholanreihe, z. B. das Aetio-cholan-3 *c*-17 *t*-diol¹⁾. Da hier Reaktion I negativ verläuft, muss der

¹⁾ Helv. 20, 541 (1937).

17-Hydroxylgruppe, wie schon *Ruzicka*, *Goldberg* und *Bosshard* vermuteten, transoider Charakter zugeschrieben werden. Eine gewisse Sonderstellung nehmen die beiden epimeren Oestradiole ein. Oestron selbst und das transoide α -Oestradiol (natürliches Follikellhormon) geben bereits nach Reaktion I eine schwache Rosafärbung, die aber bei dem cisoiden β -Oestradiol in Dunkelrosa übergeht. Bei allen drei Verbindungen, sowie auch bei den Testosteronen, tritt eine deutliche Fluoreszenz auf, für die die konz. Schwefelsäure verantwortlich ist. Mit den beiden Oestradiolen erhält man nach Reaktion II infolge weitgehender Zersetzung nur braune Farbtöne.

Die beiden 3-epimeren Androsterone, Dehydro-androsteron, Androstandion und Androstendion, alle mit einer Ketogruppe in 17-Stellung, geben keine Farbreaktion. Dasselbe gilt für alle Sterine und Sterinabkömmlinge, wie Cholensäuren und Pregnenolon, mit einer Kohlenstoffseitenkette an Stelle der Hydroxylgruppe an C₁₇. Aber auch Steroide mit einer tertiären Hydroxylgruppe in 17-Stellung, wie z. B. 17-Äthynyl-androsten-3,17-diol, 17-Äthynyl-testosteron usw., reagieren gegen Erwärmen negativ. Nur Δ^5 -17-Methyl-androsten-3 β -17(?)-diol und 17-Methyl-testosteron zeigen nach Reaktion I eine geringe Rotfärbung, nicht aber nach Reaktion II. Bei den tertiären 17-Alkoholen kann somit der sterische Charakter der Hydroxylgruppe auf diese Weise nicht bestimmt werden.

II. Andere Farbreaktionen der Steroide.

Zum Nachweis von Sterinen sind schon mehrere Farbreaktionen beschrieben worden. Am bekanntesten ist diejenige von *Liebermann* und *Burchard* (L.B.R.) mit konz. Schwefelsäure in Chloroform unter Zusatz von Essigsäure-anhydrid. Solche Reaktionen sind aber, worauf neuerdings wieder *Ruzicka*¹⁾ hingewiesen hat, meist nicht spezifisch. Auch polycyclische Körper der Di- und Triterpenreihe zeigen die L.B.R.²⁾³⁾ sowie auch diejenige von *Tschugajeff*⁴⁾ mit Trichloressigsäure in der Wärme. Von den durch Abbau der Sterine erhältlichen Gallensäuren und Sexualhormonen ist es ebenfalls bekannt, dass einige die L.B.R. geben, wenn auch weniger ausgesprochen⁵⁾⁶⁾.

Vergleichsweise wurde eine grosse Anzahl von Steroiden der L.B.R. unterworfen. Massgebend für das Auftreten dieser Farb-reaktion bei Sterinen mit einer Kohlenstoffkette an C₁₇ ist die Anwesenheit von mindestens einer Kerndoppelbindung oder einer

¹⁾ Helv. **18**, 61 (1935).

²⁾ Vgl. *Tschirch*, Harze und Harzbehälter, II. Aufl. 1082 (1906).

³⁾ M. **14**, 260 (1893).

⁴⁾ Jahresber. Tierchemie **30**, 62 (1900).

⁵⁾ B. **53**, 1857 (1920).

⁶⁾ Z. physiol. Ch. **229**, 203 (1934); Helv. **18**, 68 (1935).

Tabelle 2.
 Reaktion nach Liebermann-Burchard mit Steroiden.

	sofort	beim Stehen	nach 1 Stunde
1. Androstan-17 <i>t</i> -ol ¹⁾	—	—	farblos
2. " -17 <i>c</i> -ol ¹⁾	violett	rot — violett — blau-grün	dunkelgrün
3. -3-17 <i>t</i> -diol	schwach gelbrosa	farblos	schwach hellgelb
4. -3-17 <i>t</i> -diol	schwach gelbrosa	farblos	gelb
5. -3-17 <i>c</i> -dio ²⁾	—	schwach blaugrün	dunkelgrün
6. -3-17 <i>c</i> -dio ³⁾	hellrot	schwach blaugrün	dunkelgrün
7. -3-17 <i>c</i> -dio ³⁾	schwach rosa	farblos	gelb
8. -3-17- <i>on</i> (<i>t</i> -iso-Androsteron)	schwach rosa	farblos	gelb
9. -3- <i>ol</i> -17- <i>on</i> (Androsteron)	—	—	schwach gelblich
10. -3- <i>on</i> -17- <i>ol</i> (Dihydro- <i>t</i> -testosteron)	rotgelb	schmutzig rotbraun	braungelb
11. -3-17-dion	—	—	fast farblos
12. 17-Methyl-androstan-3 <i>t</i> -17(?)-diol	schwach violett	schwach hellblau	hellgrün
13. Δ^5 -Androsten-3 <i>t</i> -17 <i>t</i> -diol	hellrosa	fast farblos	fast farblos
14. Δ^5 -Androsten-3 <i>t</i> -17 <i>c</i> -dio ²⁾	dunkelrot	dunkelbordeaux	dunkelgrün
15. Δ^5 -17-Methyl-androsten-3 <i>t</i> -17(?)-dio ⁴⁾	rotviolett	schwarz, grün	moosgrün
16. Δ^5 -Androsten-3 <i>ol</i> -17- <i>on</i> (<i>t</i> -Dehydro-androsteron)	gelb	blaurot, dichroi- tisch, rotgrün	rotgelb
17. Δ^4 . " -3- <i>on</i> -17 <i>ol</i> (<i>t</i> -Testosteron)	(ganz schwach rosa)	sehr rasch hell- violett, graurot, hell- gelb	fast farblos
18. Δ^4 . " -3- <i>on</i> -17 <i>ol</i> (<i>c</i> -Testosteron) ²⁾	dunkelblaurot	dunkel, gelbrot mit gelber Fluoreszenz	dunkelgelbrot
19. Δ^4 -17-Methyl-androsten-3- <i>on</i> -17(?)- <i>ol</i> (Methyl-testosteron) ⁴⁾	violett	sehr rasch rot, gelb- rot, grüngelb	braun
20. Δ^4 -Androsten-3,17-dion	schwach rosa	gelblich	gelb
21. Oestron	gelbrosa	mit gelber Fluores- zenz	gelbrosa
22. 17- <i>t</i> -Oestradiol (α -Oestradiol)	—	gelbe Fluoreszenz	fast farblos
23. 17- <i>c</i> -Oestradiol (β -Oestradiol)	gelbrosa	mit gelber Fluores- zenz	gelbrosa

¹⁾ Siehe exp. Teil. ²⁾ Helv. 19, 847 (1936). ³⁾ Helv. 20, 1564 (1937). ⁴⁾ Helv. 18, 1496 (1935).

Gruppe (z. B. Hydroxylgruppe, Acyloxygruppe), durch deren Abspaltung eine solche entstehen kann. Auf diese Tatsache hat schon *Whitby*¹⁾ hingewiesen. Ob sich diese Doppelbindung im Kern A oder B befindet, ist gleichgültig, indem Δ^2 -, Δ^4 - und Δ^5 -Cholesten einen sozusagen identischen Ablauf der Farbreaktion zeigen. Die Färbung geht bei den Sterinen stets von Blau nach Grün. Für diese Farbfolge scheint die aliphatische Seitenkette an C₁₇ verantwortlich zu sein. Bei Verkürzung der Seitenkette der Sterine nehmen bei der L.B.R. Intensität und Brillanz der Färbung ab.

In Tabelle II ist das Ergebnis der L.B.R. bei einer grossen Anzahl von Vertretern der Androstan- und Oestranreihe zusammengestellt. Es handelt sich hier um Verbindungen, die an C₁₇ keine Kohlenstoffseitenkette oder höchstens eine Methylgruppe besitzen. Gesättigte Vertreter geben selbst dann keine Färbung, wenn sich, wie bei den Androsteronen, in 3-Stellung eine Hydroxylgruppe befindet.

Bei ungesättigten Steroiden ohne Hydroxylgruppe an C₁₇ und bei 17-transoiden sekundären Steroid-Alkoholen tritt sie bereits in mässiger Stärke auf. Eine intensive Farbreaktion erhält man hingegen beim Vorhandensein einer 17-cisoiden Hydroxylgruppe. Auch die tertiären Alkohole, wie Methyl-androstendiol und 17-Methyl-androstandiol reagieren hier stark positiv. Zum Nachweis des Vorhandenseins und der Lage einer 17-ständigen Hydroxylgruppe ist aber die L.B.R. wenig geeignet.

III. Zum Chemismus der neuen Farbreaktion.

a) Die Bildung von Pseudo-androsten aus 17-Androstanolen.

Die in Abschnitt I beschriebene neue Farbreaktion wurde an den einfachsten Vertretern, den 17-Androstanolen, eingehender studiert. Behandelt man diese Verbindungen in der Wärme, z. B. mit Kaliumbisulfat oder Kupfersulfat, so entsteht aus beiden Epimeren ein Öl, das sich im Vakuum destillieren lässt und das eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{19} = -25^\circ$ besitzt. Die Analysenzahlen weisen auf das Vorliegen einer Verbindung hin, die durch Abspaltung von Wasser entstanden ist. Eine sehr verdünnte Lösung hiervon in Eisessig, die etwas konz. Schwefelsäure enthält, färbt sich auf Zusatz sehr verschiedenartiger Agentien intensiv (siehe Tabelle III).

Die Färbungen mit Halogenen oder Chromsäure treten beinahe sofort auf, die mit den anderen Agentien erst nach einigen Sekunden. Eine intensive Färbung kann auch erhalten werden, wenn man eine mit etwas Schwefelsäure versetzte Lösung des Wasserabspaltungsproduktes in Eisessig belichtet oder wenn man es zunächst belichtet und hierauf in Eisessig und etwas Schwefelsäure löst.

¹⁾ Bioch. J. 17, 5 (1923).

Tabelle 3.

Chlor	rot-violett
Brom	blau-violett
Jod	grün
Essigsäure-ameisensäure-anhydrid	—
Essigsäure-anhydrid	dunkelblau
Propionsäure-anhydrid	„
Buttersäure-anhydrid	„
Bernsteinsäure-anhydrid	dunkel-violett (aber erst beim Kochen)
Maleinsäure-anhydrid	—
Trichloressigsäure	—
Di-benzoyl-peroxyd	sehr schwach violett
Chromsäure	violett
Formaldehyd und andere Aldehyde	—

Nimmt man an Stelle von konz. Schwefelsäure eine andere Mineralsäure, z. B. eine Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig oder konz. Phosphorsäure, so erhält man auf Zusatz von Halogenen ebenfalls intensive Farben, nicht aber mit Fettsäure-anhydriden.

Es ist bekannt, dass bei energischer Dehydratisierung cyclischer Alkohole, insbesondere solcher mit einem tertiären Kohlenstoffatom in α -Stellung zur Hydroxylgruppe, sehr leicht intramolekulare Umlagerungen auftreten.

Insbesondere haben *E. Bergmann* und *H. Hillemann*¹⁾, *H. Hillemann*²⁾ sowie *A. Cohen*, *J. W. Cook* und *C. L. Hewett*³⁾ nachgewiesen, dass bei der Wasserabspaltung aus 17-Alkoholen der Steroidreihe, die an C₁₃ sitzende Methylgruppe nach C₁₇ wandert. Damit in Einklang steht, dass bei der Hydrierung der durch Behandeln der 17-Androstanole mit Kaliumbisulfat erhaltenen Verbindung wohl Wasserstoff aufgenommen wurde, Androstan aber nicht isoliert werden konnte.

Wurde dagegen Androstan-17*c*-ol nach der schonenden, eine Umlagerung verhindernden Xanthogenatmethode von *Tschugajeff* dehydratisiert, so erhielt man Δ^{16} -Androsten als festen Körper vom Smp. 44,5—45° und der Drehung $[\alpha]_D^{19} = +18,5^\circ$. Dieses gab nur eine sehr geringe Färbung mit Brom in Eisessig-Schwefelsäurelösung, was wohl auf Verunreinigung durch eine Spur des oben beschriebenen Wasserabspaltungsproduktes zurückzuführen ist. Durch Absättigen der Doppelbindung von Δ^{16} -Androsten mit Wasserstoff wurde, wie erwartet, Androstan erhalten.

Das ölige Wasserabspaltungsprodukt ist als Pseudo-androsten zu bezeichnen. Es leitet sich offenbar nicht vom Androstan, sondern von einem isomeren Kohlenwasserstoff, dem Pseudo-androstan, ab.

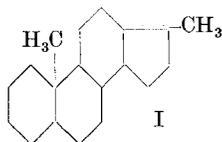
¹⁾ B. 66, 1302 (1933).

²⁾ B. 68, 102 (1935).

³⁾ Soc. 1935, 445.

b) Zur Konstitution des Pseudo-androstens.

Es lag nahe, dem Pseudo-androsten die Formel I zuzuschreiben; weitere Befunde sprechen aber für seine Uneinheitlichkeit. Auffälligerweise erscheint es weniger gesättigt. Dies geht aus folgenden Beobachtungen hervor:



1. Bromierung des Pseudo-androstens: Tropft man zu einer Lösung von Pseudo-androsten in Eisessig, nach Zusatz von Kaliumacetat, eine Lösung von Brom in Eisessig, so verschwindet das Brom, ohne jede Färbung hervorzurufen. Dabei werden bis zum Bestehenbleiben einer schwachen Gelbfärbung gegen 2 Mol Brom verbraucht. Setzt man zu dieser Lösung überschüssige konz. Mineralsäure zu, färbt sie sich intensiv blauviolett. Fällt man dagegen durch Zusatz von Wasser die Bromverbindung aus, so bildet sich ein farbloses Öl. Äthert man es aus, dann zersetzt es sich schon beim Eindampfen der Lösung unter Bromwasserstoff-Abspaltung und Violettfärbung.

2. Hydrierung des Pseudo-androstens: Bei der Hydrierung in Eisessig mit Platinoxid verbraucht frisch hergestelltes Pseudo-androsten 1 Mol Wasserstoff. Das Hydrierungsprodukt ist ein farbloses Öl, das zwar die Farbreaktion mit Schwefelsäure und Brom nicht mehr gibt, gegen Tetranitromethan sich aber als nicht gesättigt erweist. Nach der Analyse entspricht es einer Verbindung, welche die gleiche Zusammensetzung wie Androstan ($C_{19}H_{32}$) zeigt. In neutraler Lösung nahm Pseudo-androstan weder mit Platinoxid, noch mit Nickel Wasserstoff auf.

3. Optische Prüfung des Pseudo-androstens im Vergleich zu Δ^{16} -Androsten: Die Absorptionskurven¹⁾ von beiden Verbindungen waren stark verschieden, wie sich aus Figur 1 ergibt.

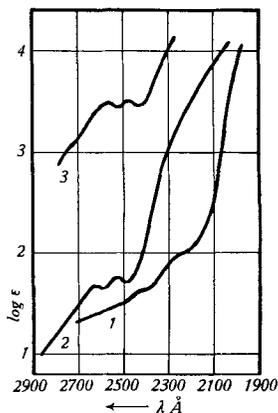


Fig. 1.

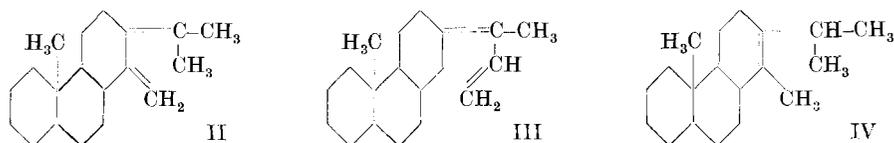
- Kurve 1. Δ^{16} -Androsten (Hexan).
- Kurve 2. Pseudo-androsten (Hexan).
- Kurve 3. Pseudo-androsten, anderes Präparat (Alkohol).

¹⁾ Wir danken Herrn Privatdozent Dr. *Almasy* für die Aufnahme der Absorptionskurven sowie für wertvolle Ratschläge.

A^{16} -Androsten zeigt die für eine einzelne Doppelbindung charakteristische Bande im äusseren Ultraviolett. Pseudo-androsten absorbiert dagegen im Allgemeinen etwas lebhafter und zeigt ausserdem zwei kleine Banden bei 2475 und 2560 Å. Letzteres spricht für die Anwesenheit einer konjugierten Doppelbindung. Die Absorptionskurve einer anderen Pseudo-androstenprobe zeigte Banden am gleichen Orte, hingegen war die absolute Absorption bedeutend kräftiger. Dies deutet auf verschiedene Zusammensetzung der Pseudo-androsten-Präparate hin.

4. Haltbarkeit des Pseudo-androstens: Pseudo-androsten ist nicht beständig. Beim Aufbewahren, besonders am Licht, verharzt es, was ebenfalls auf stark ungesättigten Charakter deutet. Frisch hergestellt, bleibt es mit 90-proz. Trichloressigsäure (*Rosenheim*-sche Reaktion) farblos¹⁾. Altes, verharztes Pseudo-androsten zeigt dagegen eine stark positive *Rosenheim*'sche Reaktion. Auch färbt sich eine Lösung in Eisessig bereits mit Mineralsäure, aber ohne weiteren Zusatz rotbraun.

Aus obigen Tatsachen darf geschlossen werden, dass das bei energischer Dehydratisierung des 17-Androstanols entstehende Pseudo-androsten uneinheitlich ist und wenigstens teilweise zwei Doppelbindungen enthält. Es ist anzunehmen, dass bei der Dehydratisierung zunächst eine Verbindung der Formel I entsteht. Diese erscheint unstabil. Durch Aufspaltung des Ringes C oder D oder der Ringbrücke $C_{13}-C_{14}$ können Verbindungen mit konjugierten Doppelbindungen entstehen. Dabei sind unzählige Isomere möglich. Die Formeln II und III geben lediglich zwei Beispiele unter der Annahme einer Aufspaltung von Ring D wieder. Durch Hydrierung z. B. der Verbindung II könnte ein Dihydroderivat der Formel IV entstehen, das noch eine schwer reduzierbare Doppelbindung aufweist. Eine ähnliche Ringöffnung ist ja bei der Überführung von Ergosterin in Vitamin D durch Belichtung wohlbekannt.



e) Dehydrierung von Pseudo-androsten und Dihydro-pseudo-androsten.

Die Dehydrierung der beiden Verbindungen mit Selen führte in guter Ausbeute offenbar zum gleichen Kohlenwasserstoff, der nach der Analyse mit γ -Methyl-cyclopenteno-phenanthren, dem *Diels*'schen K.W., identisch sein sollte. Letzterer wurde vergleichsweise aus

¹⁾ Bioch. J. **23**, 47 (1929); J. Biol. Chem. **114**, 567 (1936).

3-Acetoxy-ätio-cholensäure gewonnen. In Tabelle IV sind die Eigenschaften der beiden Kohlenwasserstoffe und ihrer Trinitrobenzolate einander gegenübergestellt. Ein eindeutiger Schluss über ihre Gleichheit oder Verschiedenheit kann daraus aber noch nicht gezogen werden.

Die grosse Ähnlichkeit der beiden K.W. spricht dafür, dass zum mindesten beide der Phenanthrenreihe angehören, was nicht der Fall wäre bei Aufspaltung von Ring C.

Tabelle 4.

	„Diels K. W.“	Neuer K. W.	Mischung
Aussehen . .	Weiche Blättchen, blaue Fluoreszenz am Tageslicht, sehr stark unter der U.V. Lampe	Feine Blättchen, keine Fluoreszenz am Tageslicht, schwach unter der U. V. Lampe	
Schmelzpunkte . .	sintert bei 126° schmilzt bei 126,5—127°	sintert bei 123,5° schmilzt bei 124°	sintert bei 124,5° schmilzt bei 126,5—127°
Trinitrobenzolat .	sintert bei 151° schmilzt bei 156,5—157,5°	sintert bei 148,5° schmilzt bei 149,5—150°	sintert bei 147,5° schmilzt bei 150—151,5°

d) Farbbildung.

Die oben beschriebene neue Farbreaktion beruht zweifellos auf Halochromie, d. h. auf der Bildung von Additionsprodukten ungesättigter organischer Stoffe mit Mineralsäure¹⁾. Offenbar erfährt das Pseudo-androsten durch den Zusatz von Halogen (unter nachfolgender Halogenwasserstoffabspaltung) und der übrigen farbgebenden Reagentien oder nach Belichtung eine weitere Dehydrierung oder Umlagerung. Erst die umgewandelte Verbindung zeigt mit starken Mineralsäuren die typische Färbung. Solche mit Mineralsäuren unmittelbar farbgebende Substanzen bezeichnet man zweckmässig als Chromogene.

Im Gegensatz zur L.B.R. ist unsere Farbreaktion viel weniger empfindlich gegen die Anwesenheit von Wasser, wenn auch die Färbung durch Zusatz von viel Wasser, von Natriumacetat oder Alkalien zum Verschwinden gebracht werden kann.

e) Versuche zur Isolierung des dem Pseudo-androsten entsprechenden Chromogens.

1 Mol Pseudo-androsten wurde in Eisessiglösung in Gegenwart von etwas Bromwasserstoffsäure bei 0° mit 4 At. Brom versetzt. Die

¹⁾ Pfeiffer, Organ. Molekül-Verbindungen, II. Aufl., 205 (1927).

tiefviolette Lösung wurde auf ein Gemisch von Eis und überschüssiges Ammoniak gegossen. Es fiel ein braunes harziges Pulver aus, das abgeseigt und getrocknet wurde. Es liess sich nicht umkrystallisieren. Eine Spur davon erteilt Eisessig eine blaue Farbe, die auf Zusatz einer Mineralsäure dunkelviolett wird. Das Harz lässt sich im Vakuum nicht sublimieren. Es enthält nur ca. 11% Brom, was nicht einem halben Atom Halogen auf ein Mol Pseudo-androsten entspricht. Ein derart hergestelltes Chromogen verändert sich beim Stehen und färbt sich dann nicht mehr beim Lösen in Eisessig.

Aus diesen Tatsachen muss geschlossen werden, dass Pseudo-androsten nach der Bromierung, insbesondere in Gegenwart von Säure, wieder Bromwasserstoff verliert und dass es sich dabei zu einem braunen, vermutlich höhermolekularen aber noch stark ungesättigten Körper, dem Chromogen, kondensiert, das mit Mineralsäuren die intensiven Färbungen ergibt.

Wie schon erwähnt wurde, vermag auch ein Gemisch von Acetanhydrid und Schwefelsäure (nicht aber Bromwasserstoff oder Phosphorsäure) Pseudo-androsten in ein Chromogen zu verwandeln. Als Endprodukte erhält man ebenfalls braune Harze, die sich in Eisessig + Mineralsäure mit intensiver Farbe lösen. Vermutlich wirkt das Anhydrid-Schwefelsäuregemisch ebenfalls umlagernd, eventuell auch dehydrierend auf das Pseudo-androsten ein. Hier ergeben sich Berührungspunkte mit der L.B.R., die ja lediglich Chloroform anstelle von Eisessig verwendet. Auch dort müssen ähnliche Umlagerungen vor sich gehen, wie sie hier wahrscheinlich gemacht worden sind.

f) Sonderstellung der Steroide mit tertiärer 17-Carbinolgruppe.

Die Tatsache, dass Steroide mit tertiärer 17-Carbinolgruppe nach unserer Reaktion keine Chromogene zu bilden befähigt sind, scheint die Annahme zu stützen, dass die Bildung von Pseudo-androsten in der Tat über eine Verbindung der Formel I führt. Die Entstehung eines analogen Produktes, z. B. aus 17-Methyl-androsten-3,17-diol, ist nicht möglich.

g) Frühere Beobachtung ähnlicher Färbungen.

Über das Auftreten ähnlicher Farben haben schon *E.* und *F. Bergmann*¹⁾ berichtet. Diese Forscher beobachteten, dass die durch thermische Zersetzung von Cholesterylchlorid erhältlichen ungesättigten Kohlenwasserstoffe sich beim Bromieren intensiv violett bzw. blau und grün färben. Da bei der thermischen Spaltung die Seitenkette grösstenteils als Oktan abgetrennt wird, können sich Pseudo-androsten-ähnliche Kohlenwasserstoffe bilden. Mit Brom und Spuren von

¹⁾ Chem. and Ind. 55, 272 (1936).

Bromwasserstoff, der sich infolge von Substitution bildet, können dann in analoger Weise wie bei unserer Farbreaktion die von obigen Forschern beobachteten Färbungen entstehen.

h) Bereich der neuen Farbreaktion.

Wie sich nun ergibt, bildet die von uns beschriebene neue Farb-reaktion nicht nur ein Kriterium auf anwesende Hydroxylgruppen in 17-Stellung der Steroide, sondern sie weist auch auf die Anwesenheit von mehrfachen Doppelbindungssystemen hin, wie sie im Pseudo-androsten wenigstens teilweise vorkommen. Auf die Analogie zur Vitamin-D-Bildung bei seiner Entstehung wurde bereits hingewiesen. In der Tat zeigen auch Ergosterin und Vitamin D wie Pseudo-androsten in Eisessiglösung mit Brom oder Acetanhydrid in Gegenwart von Schwefelsäure sowohl mit als ohne vorheriges Erhitzen intensive Farben (Tabelle V); Cholestadien nur nach Zusatz von Acetanhydrid. Während aber Pseudo-androsten und seine Derivate blaurote bis blaue Farben ergeben, erhält man bei diesen drei Verbindungen mit konjugierten Systemen eine grüne Endfärbung. Es wird von Interesse sein, auch hier die entsprechende Chromogenstufe zu isolieren.

Tabelle 5.

	Zusatz von	
	Brom	Essigsäureanhydrid
Calciferol (Vitamin D ₂) . .	olive → blau-grün	braun → grün
Ergosterin	dunkelgrün	rot → violett → blau → grün
Cholestadien (Choleste- rylen)	sehr schwach gelb- grün	grün

i) Ausblick.

Wir sind uns wohl bewusst, dass das vorliegende Material sehr lückenhaft ist und noch in mannigfacher Hinsicht der Ergänzung bedarf. Über weitere Befunde werden wir später berichten. Wenn wir unsere Ergebnisse schon jetzt veröffentlichen, so geschieht dies, um auf neue Umwandlungsmöglichkeiten der Steroide aufmerksam zu machen. Jedenfalls bieten die Farbreaktionen der Steroide noch manche Rätsel, die der Aufklärung harren.

Experimenteller Teil.

Androstan-17*t*-ol.

Diese Verbindung wurde zuerst nach der Vorschrift von *Reichstein*¹⁾ dargestellt, wobei als Nebenprodukt Androstan gewonnen wurde. In über 80% Ausbeute wurde später dieser Körper durch

¹⁾ Helv. 19, 979 (1936).

Reduktion von Dihydro-*t*-testosteron mit amalgamierter Zinkwolle und konz. Salzsäure hergestellt. Zur Vermeidung des lästigen Schäumens wurde etwas Alkohol und Benzol zugesetzt. Smp. 163—164°.

Androstan-17*c*-ol.

Obige Methode liess sich zur Darstellung des entsprechenden Androstan-17*c*-ols nicht anwenden, da, wie im theoretischen Teil dargetan worden ist, die 17*c*-ol-Verbindungen gegen starke Mineralsäuren sehr empfindlich sind. Die Reduktion der Ketogruppe des Dihydro-*c*-testosterons nach *Wolff-Kishner* ergab nur ein unerfreuliches Gemisch.

Folgende Synthese, die zuerst an dem transoiden Isomeren auf ihre Eignung ausprobiert worden war, führte zum Ziel.

2,0 g Androstan-3*t*,17*c*-diol-17-hexahydro-benzoat¹⁾ wurden in 6 cm³ Pyridin gelöst und mit 2,0 g *p*-Toluolsulfochlorid versetzt. Nach dem Stehen über Nacht fällte man das Androstan-3*t*,17*c*-diol-3-*p*-toluolsulfonat-17-hexahydro-benzoat mit Wasser aus. Es wurde zuerst nur ölig erhalten. Später liess sich die Substanz aus Methanol krystallisieren. Auf eine Analyse wurde wegen schlechter Krystallbildung verzichtet. Durch Kochen in Chinolin entstand daraus Δ^2 -Androsten-17*c*-ol-hexahydro-benzoat. Blättchen aus Methanol vom Smp. 117°.

4,845 mg Subst. gaben 14,39 mg CO₂ und 4,57 mg H₂O

C ₂₆ H ₄₀ O ₂	Ber. C 81,18	H 10,49%
Gef. „	81,00	„ 10,57%

Durch Hydrieren in Eisessig mit Platinoxid wurde aus der ungesättigten Verbindung das Androstan-17*c*-ol-hexahydro-benzoat gewonnen. Blättchen vom Smp. 138—139°.

3,894 mg Subst. gaben 11,55 mg CO₂ und 3,80 mg H₂O

C ₂₆ H ₄₂ O ₂	Ber. C 80,76	H 10,96%
Gef. „	80,91	„ 10,93%

1,1 g des Hexahydro-benzoates wurden in 16,5 cm³ abs. Alkohol und 3,4 cm³ 10-n. Natronlauge 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Ausfällen mit Wasser wurde aus Methanol umkrystallisiert, wobei das Androstan-17*c*-ol in Nadeln vom Smp. 152—153° erhalten wurde.

2,708; 5,563 mg Subst. gaben 8,23; 16,85 mg CO₂ und 2,81; 5,74 mg H₂O

C ₁₉ H ₃₂ O	Ber. C 82,53	H 11,68%
Gef. „	82,79; 82,61	„ 11,57; 11,54%

Δ^{16} -Androsten.

Androstan-17*c*-ol wurde nach der Methode von *Tschugajeff*²⁾ ins Methyl-xanthogenat übergeführt und dieses bei 150—160° im Wasserstrahlvakuum zersetzt. Das Destillat wurde mit wenig Hexan angerieben, wobei der grösste Teil des Androstan-17*c*-ols unverändert

¹⁾ Helv. **20**, 1561 (1937).

²⁾ Siehe auch *M. Steiger* und *T. Reichstein*, Helv. **20**, 825 (1937).

wieder auskrystallisierte. Es wurde hievon abgesogen und das nach dem Verdampfen des Hexans zurückbleibende rohe Δ^{16} -Androsten zweimal bei 60—70° im abs. Vakuum destilliert, in Hexan über Kalium-Natriumlegierung gekocht und zuletzt durch Behandeln mit Bernsteinsäure-anhydrid in Pyridin von den letzten Resten des Androstanols befreit. Aus Alkohol bei -10° wurden Blättchen vom Smp. 44,5—45° erhalten.

3,136 mg Subst. gaben 10,14 mg CO₂ und 3,31 mg H₂O

C ₁₉ H ₃₀	Ber. C 88,29	H 11,71%
	Gef. „ 88,20	„ 11,81%

$[\alpha]_D^{19} = + 18,5^\circ$ (C = 1,19, Alk.)

Bei der Hydrierung des Δ^{16} -Androstens in Eisessig mit Platin-oxyd entstand Androstan vom Smp. 45,5°. Mit reinem Androstan vom Smp. 49—50° gemischt, beträgt der Smp. 48,5—49,5°.

Pseudo-androsten.

1,0 g Androstan-17*c*-ol wurden mit 2,0 g Kaliumbisulfat oder wasserfreiem Kupfersulfat innig verrieben und in einem Destillierkölbchen ½ Stunde im Wasserstrahlvakuum auf 150° erhitzt. Dann wurde auf ca. 0,2 mm evakuiert; das Pseudo-androsten destillierte als farbloses Öl über. Die ganze Operation wurde unter Lichtabschluss vorgenommen, wie auch die Aufbewahrung des Präparates.

6,704; 5,387 mg Subst. gaben 21,71; 17,43 mg CO₂ und 7,16; 5,72 mg H₂O

C ₁₉ H ₃₀	Ber. C 88,29	H 11,71%
	Gef. „ 88,32; 88,24	„ 11,95; 11,88%

$[\alpha]_D^{19} = - 25^\circ$ (C = 1,33, Alk.)

Die Oxydation von Pseudo-androsten mit Chromsäure in Eisessig ergab bloss ölige Säuren und Neutralprodukte. Es konnte bis jetzt kein krystallisiertes Derivat isoliert werden.

Hydrierung: 516 mg dieses Körpers wurden in 15 cm³ Essigester gelöst zu 200 mg unter 15 cm³ Eisessig vorreduziertem Platin-oxyd gegeben und bei Zimmertemperatur mit Wasserstoff ohne Überdruck geschüttelt. Nach 1½ Stunden war die Reduktion zum Stillstand gekommen. Die Aufnahme betrug 50 cm³ bei 18°, das entspricht 1 Mol. Aus dem Reaktionsprodukt wurden 508 mg eines farblosen Öles erhalten, das in Eisessig mit Brom und konz. Schwefelsäure keine Spur einer Blaufärbung ergab. Mit Tetranitromethan gemischt, färbt es sich dagegen stark gelb.

5,151 mg Subst. gaben 16,56 mg CO₂ und 5,74 mg H₂O

C ₁₉ H ₃₂	Ber. C 87,60	„ 12,40%
	Gef. „ 87,68	„ 12,47%

Bromierung zum Chromogen: 258 mg Pseudo-androsten wurden in 2 cm³ Äther und 5 cm³ Eisessig gelöst. Nach Zusatz von 0,2 cm³ 50-proz. wässriger Bromwasserstoffsäure wurde unter Eis-

kühlung eine Lösung von 320 mg Brom (4 At.) in 10 cm³ Eisessig zugetropft. Die tief blau-violette Lösung wurde nach kurzem Stehen auf Eis + überschüssigem Ammoniak getropft. Es schied sich ein braunes Pulver aus, das abgesogen, gewaschen und im Vakuum getrocknet, 290 mg wog. Es löst sich in Eisessig zu einer blauen Flüssigkeit, die auf Zusatz von etwas Mineralsäure tief blau-violett wird. Diese Eigenschaft verliert sich aber nach längerem Stehen. Das braune Harz liess sich nicht umkrystallisieren und nicht sublimieren.

5,052; 6,211 mg Subst. gaben 1,279; 1,630 mg AgBr

Gef. Br. 10,80; 11,16%

Das Mindest-Molekulargewicht auf 1 Atom Brom berechnet, beträgt somit ca. 725.

Dehydrierungen.

1. 1,32 g 3-Acetoxy-aetio-cholensäure wurden mit 2 g Selen vermischt, auf zwei Einschmelzröhren verteilt und 36 Stunden auf 350° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in Äther gelöst und mit Natronlauge durchgeschüttelt. Der Ätherrückstand (0,74 g), in Hexan gelöst, wurde an 30 g Aluminiumoxyd adsorbiert und mit Hexan entwickelt. Es konnten neben 0,45 g öligen Produkten 204 mg krystallisierte Fraktionen erhalten werden, die zusammen aus Alkohol umgelöst wurden. Weiche Blättchen, die infolge der ausserordentlich starken Fluoreszenz bläulich erscheinen. Sie sintern bei 126° und schmelzen bei 126,5—127°. Das Trinitrobenzol-Additionsprodukt sintert bei 151° schwach und schmilzt bei 156,5—157,5°.

4,573 mg Subst. gaben 15,65 mg CO₂ und 2,80 mg H₂O

C ₁₈ H ₁₆	Ber. C 93,05	H 6,95%
	Gef. „ 93,32	„ 6,85%

2. Pseudo-androsten.

In analoger Weise wurden Pseudo-androsten, Dihydro-pseudo-androsten und Androstan-17c-ol dehydriert. In allen drei Fällen wurde derselbe Kohlenwasserstoff erhalten, der bei 123,5° sintert und bei 124° schmilzt. Er ist keine Spur bläulich und fluoresziert auch unter der Analysenquarzlampe nur schwach. Das Trinitrobenzolat sintert bei 148,5° und schmilzt bei 149,5—150°.

4,966 mg Subst. gaben 16,91 mg CO₂ und 3,10 mg H₂O

C ₁₈ H ₁₆	Ber. C 93,05	H 6,95%
	Gef. „ 92,87	„ 7,00%

Die Analysen wurden in unserem analytischen Laboratorium von Hrn. Dr. Gysel ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba, Basel.
Pharmazeutische Abteilung.