

118. Über Steroide

(22. Mitteilung¹⁾)

17-Epimere Methyl-androstendiole und Methyl-testosterone

von K. Miescher und W. Klarer.

(1. VI. 39.)

Kürzlich zeigten K. Miescher und E. Tschopp²⁾, dass dem von L. Ruzicka, M. W. Goldberg und H. R. Rosenberg³⁾ hergestellten 17-Methyl-testosteron an der Ratte oral eine bedeutend stärkere Wirkung zukommt als dem eigentlichen Hodenhormon Testosteron. Damit gewinnt jene Verbindung erhebliches praktisches Interesse. Die Zürcher Forscher stellten sie durch Umsetzung von Dehydro-androsteron mit Methylmagnesiumjodid und Oxydation des erhaltenen 17-Methyl-androstendiols mit Chromsäure dar. Anlässlich der Gewinnung von 17-Methyl-testosteron in grösserem Masstabe fahndeten wir nach dem Vorhandensein von in 17-Stellung epimeren Verbindungen, da uns die Kenntnis der beiden epimeren 17-Methyl-testosterone im Hinblick auf die Spezifitätsfrage von Interesse schien.

Zunächst gelang es uns, die 17-epimere Verbindung des bekannten 17-Methyl-androstendiols aus der bei der Umsetzung von *t*-Dehydro-androsteron mit Grignard-Reagens anfallenden Mutterlauge nach Entfernen nicht umgesetzten Dehydro-androsterons mit Semicarbazid durch mehrmaliges Umkrystallisieren der nicht ketonischen Anteile zu isolieren. Wie aus untenstehender Tabelle hervorgeht, besitzt das neue 17-iso-Methyl-androstendiol beinahe den gleichen Schmelzpunkt wie das bereits bekannte „normale“ Epimere. Das Gemisch der beiden zeigt aber eine starke Schmelzpunktsdepression; ausserdem dreht die Iso-Verbindung stärker nach links. Deutlicher unterscheiden sich bezüglich ihrer Schmelzpunkte die beiden 3-Monoacetate.

Während sich das normale Methyl-androstendiol, wie schon S. Kuwada und M. Mijasaka⁴⁾ gezeigt haben und wir neuerdings bestätigen konnten, auch in ein Diacetat überführen lässt, gelingt dies nach unseren Befunden bei der Iso-Verbindung in keiner Weise. Offenbar ist hier die tertiäre 17-Hydroxylgruppe sterisch noch stärker gehemmt, was auf ihren cisoiden Charakter hindeuten würde.

¹⁾ 21. Mitteilung s. Helv. **22**, 894 (1939).

²⁾ Schweiz. Med. Wschr. **68**, 1258 (1938).

³⁾ Helv. **18**, 1495 (1935).

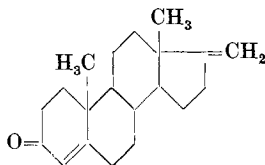
⁴⁾ Chem. Abstr. **32**, 5849 (1938).

Tabelle I.

	17-Epimere				Misch- schmelz- punkt
	Normale Verbind.		Iso-Verbind.		
	Smp. (korr.)	$[\alpha]_D$ (Alk.)	Smp. (korr.)	$[\alpha]_D$ (Alk.)	
17-Methyl- Δ^5 -androgen-3t,17-diol .	205,5–206,5 ⁰	– 73 ⁰	203–204 ⁰	– 81 ⁰	175–190 ⁰
17-Methyl- Δ^5 -androgen-3t,17-diol- 3-acetat	179–180 ⁰ 1)	– 72 ⁰	160–161 ⁰	– 77 ⁰	130–140 ⁰
17-Methyl- Δ^5 -androgen-3,17-diol- diacetat	145–146 ⁰ 2)	– 59 ⁰	—	—	—
17-Methyl-testosteron	165–166 ⁰	+ 82	182–183 ⁰	+ 66 ⁰	133–146 ⁰
17-Methyl-testosteron-acetat	176–176,5 ⁰ 2)	+ 69 ⁰	—	—	—
17-Methyl-testosteron-semicarbazon	226 ⁰ u. Zers.	—	220–222 ⁰	—	212–214 ⁰ u. Zers.

Durch Oxydation des 17-iso-Methyl-androstendiols, z. B. mit Ketonen in Gegenwart von Aluminiumalkoholaten nach *R. V. Oppenauer*³⁾ gelangt man zu dem 17-iso-Methyl-testosteron. Es schmilzt höher als die normale Verbindung. Vergleichsweise wurden auch die Semicarbazone der beiden Methyl-testosterone hergestellt. Während ein Acetat des normalen Methyl-testosterons beschrieben ist, gelang uns auch in diesem Falle die Acetylierung der 17-Hydroxylgruppe des 17-iso-Methyl-testosterons nicht. Der Hydroxylgruppe darf demnach auch hier cisoider, der des normalen Methyl-testosterons transoider Charakter zugesprochen werden.

Zum Beweis, dass sich die beiden Methyl-testosterone nur durch Epimerie an C₁₇ unterscheiden, haben wir sie nach dem von *A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé* und *H. Paul*⁴⁾ angegebenen Verfahren der Wasserabspaltung durch Erhitzen mit Kupfersulfat im Vakuum unterworfen. Obgleich die Reaktion nicht einheitlich verläuft, konnte doch in beiden Fällen das gleiche doppelt-ungesättigte Keton gewonnen werden, das durch ein Semicarbazon charakterisiert wurde. Die Frage nach der Konstitution des Ketons ist noch nicht entschieden worden. Möglicherweise handelt es sich, ähnlich wie bei dem von *Butenandt* und Mitarbeitern untersuchten nächst höheren Homologen mit semicyclischer Doppelbindung, um das 3-Keto-17-methylen- Δ^4 -androgen der Formel



1) Engl. Pat. No. 452716.

2) Chem. Abstr. **32**, 5849 (1938).

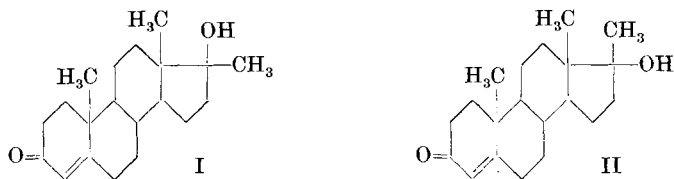
3) R. **56**, 137–144 (1937).

4) B. **71**, 1313 (1938).

Jedenfalls liessen sich mit Osmiumtetroxyd zwei Hydroxylgruppen anlagern unter Bildung eines Ketodiols vom Smp. 238°. Über die Fortführung dieser Versuche werden wir später berichten.

Das 17-iso-Methyl-testosteron wurde von *E. Tschopp* physiologisch untersucht. Es erwies sich im Rattentest (10 Tage) wie auch im Kapaunenkammttest (6 Tage) bei täglichen Dosen bis zu 1 mg subkutan als unwirksam. Dies steht im Einklang mit den früheren Befunden bei 17-epimeren Testosteronen und Oestradiolen, wo ebenfalls die transoide Form die bei weitem wirksamere darstellte. Es darf vermutet werden, dass der Hydroxylgruppe innert der cisoiden wie auch entsprechend innert der transoiden Reihe der 3-Epimeren-paare die gleiche sterische Lage zum Ringsystem zukommt.

T. Reichstein und *K. Gätzi*¹⁾ haben zuerst auf die Möglichkeit hingewiesen, dass sich die durch Anlagerung von Acetylen oder Äthylmagnesium-halogeniden an Androsteron oder Dehydro-androsteron erhaltenen 17-Oxy-Steroide an C₁₇ sterisch von entsprechenden in der Nebennierenrinde aufgefundenen Verbindungen unterscheiden. Sie stützen sich dabei auf das unterschiedliche Verhalten der 3-Hydroxyderivate gegen Digitonin. Erstere Verbindungen (α -Reihe) reagieren damit nicht, wohl aber letztere (β -Reihe). *K. Miescher* und *A. Wettstein*²⁾ konnten kurz darauf zeigen, dass die Anlagerung von Cyanwasserstoff an Dehydro-androsteron zur Hauptsache sterisch in derselben Weise erfolgt, wie diejenige von Acetylen und *Grignard*-Reagens. Zugleich liess sich der Unterschied der α - und β -Reihe durch Vergleich der entsprechenden 17-Oxy-ätiolensäuren eindeutig festlegen. Wenn auch anzunehmen ist, dass entsprechend das normale 17-Methyl-testosteron der α -, die Iso-Verbindung der β -Reihe angehört und ihnen nach der Schreibweise von *Reichstein* die Formeln I und II zuzuordnen sind³⁾, so fehlen noch eindeutige Beweise hiefür. Die Digitoninprobe versagt hier,



da die epimeren 17-Methyl-androstendiole beide positiv, die Methyltestosterone dagegen beide negativ reagieren. Genau gleich verhalten sich übrigens die 17-epimeren Androstendiole und Testo-

¹⁾ *Helv.* **21**, 1188 (1938); siehe z. B. auch *T. Reichstein* und *C. Meystre*, *Helv.* **22**, 728 (1939).

²⁾ *Helv.* **22**, 112 (1939).

³⁾ Diese Formeln sollen aber nichts über die wahre Lage der Hydroxylgruppe etwa zur Methylgruppe aussagen.

sterone¹⁾, während bekanntlich bei den Oestradiolen lediglich die transoide Form durch Digitonin gefällt wird.

Erwiesen ist somit, dass bei den Hormonen der 17-Oxy-Steroidreihe die sterische Konfiguration an C₁₇ die Wirkung entscheidend beeinflusst. Für die Hydroxyl-freien Progesterone schien dies jedoch nicht zu gelten. Neo-progesteron, das von *K. Miescher* und *H. Kägi*²⁾ aufgefundene Isomere des Progesterons, erwies sich als ähnlich wirksam wie Progesteron selbst. Sie vermuteten zunächst, dass in ihm vielleicht das wahre 17-Epimere des Progesterons vorliege, erwogen aber auch die Möglichkeit einer Umformung von Ring D. Nach neueren Untersuchungen von *Ruzicka* und von *Reichstein*³⁾ scheint für Verbindungen der „Neo-Reihe“ letztere Ansicht zutreffen. Soeben gelang *A. Butenandt*, *J. Schmidt-Thomé* und *H. Paul*⁴⁾ die Synthese des wahren 17-iso-Progesterons. Die Frage seiner Aktivität ist aber noch nicht entschieden, da sie lediglich aussagen, dass „es im Gegensatz zum Progesteron mit 0,6 und 0,9 mg die proliferierte Uterusschleimhaut des infantilen Kaninchens noch nicht zur dualen Umwandlung bringt“.

Weitere Versuche über den Zusammenhang zwischen sterischer Konstitution und Wirkung innert der Steroidreihe versprechen noch interessante Ergebnisse.

Experimenteller Teil ⁵⁾.

17-iso-Methyl-androstendiol (17-Methyl- Δ^5 -androstendiol).

Die Prüfung der Mutterlaugenprodukte des nach dem Verfahren von *L. Ruzicka*, *M. W. Goldberg* und *H. R. Rosenberg*⁶⁾ hergestellten „normalen“ 17-Methyl- Δ^5 -androstendiol-3*t*,17*t*-diols mit Hilfe von *Girard*-Reagens ergab einen Gehalt an nicht umgesetztem Dehydroandrostern von 65%. Der restliche Neutraltteil schmolz bei 145—150°. Nun wurden 185 g des ursprünglichen Rückstandes in alkoholischer Lösung mit Semicarbazid-acetat (aus 100 g Semicarbazidhydrochlorid) umgesetzt. Hierauf nutschte man das ausgefallene *t*-Dehydroandrostern-semicarbazon (156 g) ab und fällte aus der alkoholischen Mutterlauge die nicht ketonischen Anteile durch Verdünnen mit Wasser. Durch Aufnahme der Fällung in Äther konnten geringe Mengen harziger Nebenprodukte abgetrennt werden. Beim

¹⁾ Setzt man *c*- und *t*-Testosteron mit Digitonin um, dampft die Lösung ein und zieht den Rückstand mit Äther aus, so kann nach Versuchen von *W. H. Fischer* lediglich *c*-Testosteron nahezu quantitativ zurück erhalten werden, nicht aber das *t*-Testosteron. Dies spricht dafür, dass nur *t*-Testosteron mit Digitonin eine Doppelverbindung eingeht, die aber in Alkohol leicht löslich ist.

²⁾ *Helv.* **22**, 184 (1939).

³⁾ *L. Ruzicka* und *H. F. Mehdahl*, *Helv.* **22**, 421 (1939); *L. Ruzicka*, *K. Gützi* und *T. Reichstein*, *Helv.* **22**, 626 (1939).

⁵⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁴⁾ *B.* **72**, 1112 (1939).

⁶⁾ *Helv.* **18**, 1495 (1935).

Verdampfen des Äthers verblieben 57 g vom Smp. 170—172°. Durch Lösen des Ätherrückstandes in 400 cm³ heissem Methanol und Abkühlenlassen der Lösung konnten noch 4,1 g *t*-Dehydro-androsteronsemicarbazon abgetrennt werden. Das klare Filtrat wurde mit Methanol auf 500 cm³ ergänzt und in der Wärme mit 100 cm³ Wasser verdünnt. Aus der methylalkoholischen Lösung krystallisierten 26 g vom Smp. 191—192°. Das so erhaltene 17-iso-Methyl-androstendiol wurde noch einmal aus 80-proz. Methanol und dann aus Essigester umgelöst. Dadurch stieg der Schmelzpunkt der Substanz (14,6 g) auf 203—204°. Weiteres Umkrystallisieren aus Essigester ändert ihn nicht mehr.

4,090 mg Subst. gaben 11,85 mg CO₂ und 3,90 mg H₂O

C₂₀H₃₂O₂ Ber. C 78,89 H 10,60%
Gef. „ 79,02 „ 10,68%

$[\alpha]_D^{21} = -81^\circ$ ($c = 0,973$ in Alkohol)
 $-84,5^\circ$ ($c = 0,977$ in Chloroform).

3-Acetat: 1 g 17-iso-Methyl-androstendiol liess man in einem Gemisch von Pyridin und Essigsäure-anhydrid 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Dann dampfte man im Vakuum ein, wusch den Rückstand gründlich mit verdünnter Salzsäure und Sodalösung und krystallisierte ihn nach gutem Trocknen aus Hexan um. Das so gewonnene 3-Acetat des 17-Methyl- Δ^5 -androsen-3*t*,17*c*-diols schmolz bei 160—161°.

4,270 mg Subst. gaben 11,93 mg CO₂ und 3,73 mg H₂O

C₂₂H₃₄O₃ Ber. C 76,25 H 9,90%
Gef. „ 76,20 „ 9,78%

$[\alpha]_D^{21} = -77^\circ$ ($c = 1,003$ in Alkohol)

Diacetat des normalen 17-Methyl- Δ^5 -androsen-3*t*,17*t*-diols¹⁾.

1 g normales 17-Methyl-androstendiol wurde mit 10 cm³ Essigsäure-anhydrid während einer halben Stunde zum Sieden erhitzt und hierauf das Anhydrid und die gebildete Säure im Vakuum entfernt. Den sofort fest gewordenen Rückstand nahm man in Äther auf, reinigte die Ätherlösung durch Waschen mit Sodalösung und Wasser und dampfte sie nach dem Stehen über geschmolzenem Calciumchlorid zur Trockne ein. Der Ätherrückstand (1,2 g) wurde in 100 cm³ Hexan gelöst, auf eine mit Hexan bereitete Säule von 25 g Floridin gegossen und mit je 200 cm³ Hexan nachgewaschen. Schon das zweite Filtrat ergab einen Rückstand von 0,56 g. Aus 10 cm³ Hexan umkrystallisiert erhielt man 0,44 g vom Smp. 145—146°.

4,889 mg Subst. gaben 13,30 mg CO₂ und 4,05 mg H₂O

C₂₄H₃₆O₄ Ber. C 74,18 H 9,34%
Gef. „ 74,19 „ 9,27%

$[\alpha]_D^{21} = -59^\circ$ ($c = 0,984$ in Alkohol)

¹⁾ Chem. Abstr. 32, 5849 (1938).

Bei dem Versuch, das Diacetat des 17-iso-Methyl-androstendiols nach dem oben beschriebenen Verfahren herzustellen, konnte nur das 3-Monoacetat des 17-iso-Methyl-androstendiols in krystallisiertem Zustand isoliert werden.

17-iso-Methyl-testosteron (17-Methyl- Δ^4 -androst-3-on-17 α -ol).

In eine kochende Lösung von 3 g 17-iso-Methyl-androstendiol in einem Gemisch von 75 cm³ reinem Toluol und 25 cm³ Cyclohexanon wurden 3 g Aluminiumisopropylat eingetragen und die Reaktionslösung während 2 Stunden im Sieden gehalten. Nach dem Abkühlen fügte man 40 cm³ 2-n. Schwefelsäure zu und trennte im Scheidetrichter die toluolische Lösung ab. Die Toluol-Cyclohexanon-Lösung wurde mit Wasser neutral gewaschen und dann der Destillation mit Wasserdampf unterworfen, wobei solange destilliert wurde, bis das Destillat vollkommen klar lief. Der im Kolben verbliebene Rückstand wurde abgenutscht und nach gutem Trocknen mit wenig Äther verrieben. Das in Äther ungelöste Produkt krystallisierte man aus einem Benzol-Hexangemisch um. Daraus erhielt man das 17-iso-Methyl-testosteron in 70—80-proz. Ausbeute vom Smp. 182—183°.

3,748 mg Subst. gaben 10,90 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O

C ₂₀ H ₃₀ O ₂	Ber. C 79,42	H 10,03%
	Gef. „ 79,32	„ 10,15%

$[\alpha]_D^{21} = +66^\circ$ ($c = 1,001$ in Alkohol)

+72° ($c = 0,899$ in Chloroform).

Semicarbazon: Umsetzung des Ketons in alkoholischer Lösung mit Semicarbazid-acetat in der Wärme und Umkrystallisieren des erhaltenen Semicarbazons aus Alkohol ergab Krystalle vom Smp. 220—222° unter Zersetzung.

2,288 mg Subst. gaben 0,236 cm³ N₂ (21°, 736 mm)

C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₃	Ber. N 11,69	Gef. N 11,60%
---	--------------	---------------

In gleicher Weise wurde auch das Semicarbazon des normalen 17-Methyl-testosterons vom Smp. 226° unter Zersetzung erhalten.

3,323 mg Subst. gaben 0,348 cm³ N₂ (24°, 736 mm)

C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₃	Ber. N 11,69	Gef. N 11,65%
---	--------------	---------------

Wird der Schmelzpunkt des Semicarbazons in einem geschlossenen Röhren bestimmt, so liegt er erst bei 270—272° unter Zersetzung.

Acetat des „normalen“ 17-Methyl-testosterons¹⁾.

3 g normales 17-Methyl-testosteron wurde in einer Mischung von 15 cm³ Pyridin und 15 cm³ Essigsäure-anhydrid 4 Stunden bei 130—140° gehalten. Dann versetzte man die braune Reaktions-

¹⁾ S. Kuwada und M. Mijasaki, Chem. Abstr. **32**, 5849 (1938) stellten diese Verbindung durch Oxydation des Androsten-3 β ,17 β -diol-17-acetats her.

lösung unter Eiskühlung mit soviel Wasser, bis keine Fällung mehr entstand. Nach dem Abtrennen der Fällung von der Flüssigkeit und gründlichem Waschen mit Wasser wurde dieselbe in Äther aufgenommen. Die Ätherlösung wusch man nochmals mit verdünnter Salzsäure und Sodalösung und dampfte sie nach dem Trocknen ein. Der Ätherrückstand (3,10 g) wurde zweimal mit Methanol umgelöst. Dabei erhielt man 1,6 g 17-Methyl-testosteron-acetat vom Smp. 176 bis 176,5°.

4,868 mg Subst. gaben 13,72 mg CO₂ und 4,12 mg H₂O

C ₂₂ H ₃₂ O ₃	Ber. C 76,69	H 9,36%
	Gef. „ 76,89	„ 9,47%

$[\alpha]_D^{20} = +69^\circ$ ($c = 0,981$ in Alkohol)

Auf gleiche Weise wurde auch versucht zum Acetat des 17-iso-Methyl-testosterons zu gelangen. Als Reaktionsprodukte wurden nicht krystallisierbare Harze erhalten. Unter mildereren Bedingungen (z. B. 5-stündiges Erhitzen in Essigsäure-anhydrid bei 100—105°) konnte aus dem Reaktionsgemisch nur das Ausgangsmaterial als definierbare Substanz isoliert werden.

Wasserabspaltungsprodukte.

a) Aus normalem 17-Methyl-testosteron.

1 g normales 17-Methyl-testosteron wurde mit 2 g entwässertem Kupfersulfat vermischt und unter 0,01 mm Druck auf 135—150° erhitzt. Dabei destillierten 0,84 g eines gelblichen Öles, das bald zu einer krystallisierten Masse erstarrte. Durch 2maliges Umkrystallisieren aus der ca. 5-fachen Menge Hexan erhielt man ein Keton vom Smp. 135—136°.

4,545 mg Subst. gaben 14,07 mg CO₂ und 4,02 mg H₂O

C ₂₀ H ₂₈ O	Ber. C 84,44	H 9,92%
	Gef. „ 84,43	„ 9,90%

$[\alpha]_D^{21} = +137^\circ$ ($c = 1,125$ in Alkohol)

Semicarbazon: Durch ¼-stündiges Erwärmen einer alkoholischen Lösung des Wasserabspaltungsproduktes mit Semicarbazid-acetat und 2maliges Umkrystallisieren des Kondensationsproduktes aus Alkohol wurde ein Semicarbazon vom Smp. 230° unter Zersetzung erhalten.

3,287 mg Subst. gaben 0,362 cm³ N₂ (23°, 736 mm)

C ₂₁ H ₃₁ ON ₃	Ber. N 12,31	Gef. N 12,30%
---	--------------	---------------

b) Aus 17-iso-Methyl-testosteron.

Die Wasserabspaltung wurde wie oben angegeben ausgeführt. 2maliges Umkrystallisieren des Destillates aus Hexan ergab ein

Produkt vom Smp. 135—136°. Die Mischprobe der beiden Wasserabspaltungsprodukte zeigte den gleichen Schmelzpunkt.

4,848 mg Subst. gaben 14,99 mg CO₂ und 4,30 mg H₂O

C₂₀H₂₈O Ber. C 84,44 H 9,92%
 Gef. „, 84,33 „, 9,99%

$[\alpha]_D^{21} = +136^{\circ}$ ($c = 1,233$ in Alkohol)

Semicarbazon: Smp. 230—231° unter Zersetzung.

2,213 mg Subst. gaben 0,247 cm³ N₂ (24°, 736 mm)

C₂₁H₃₁ON₃ Ber. N 12,31 Gef. N 12,42%

Die Mischprobe der beiden Semicarbazone aus den Wasserabspaltungsprodukten zeigte einen unveränderten Schmelzpunkt.

3-Keto-diol des Wasserabspaltungsproduktes aus den epimeren 17-Methyl-testosteronen.

Zu einer Lösung von 0,4 g des durch Wasserabspaltung aus 17-Methyl-testosteron erhaltenen Ketons in 24 cm³ absolutem Äther gab man eine Lösung von 0,4 g Osmiumtetroxyd in 40 cm³ absolutem Äther. Dabei färbte sich die Lösung sofort dunkelbraun unter gleichzeitiger Bildung eines dunkelbraunen Niederschlages. Das Reaktionsgemisch liess man noch 2 Tage bei —10° stehen, entfernte hierauf den Äther im Vakuum und nahm den Rückstand in 40 cm³ Alkohol auf. Zu der alkoholischen Lösung fügte man eine Lösung von 8 g Natriumsulfit in 80 cm³ Wasser und kochte das Gemisch während 2 Stunden auf dem Wasserbad. Von dem ausfallenden, schwarzen Niederschlag wurde abfiltriert und der Filtrerrückstand noch zweimal mit heissem Alkohol ausgezogen. Die vereinigten alkoholischen Filtrate engte man im Vakuum ein, nahm den Rückstand in Chloroform auf, wobei überschüssiges Natriumsulfit ungelöst blieb, und dampfte die klare Chloroformlösung zur Trockne ein. Durch Umkrystallisieren des Rückstandes von 0,4 g aus 25 cm³ Essigester erhielt man das neue 3-Keto-diol vom Smp. 234—235°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus dem gleichen Lösungsmittel erhöhte den Schmelzpunkt auf 238°.

4,502 mg Subst. gaben 12,43 mg CO₂ und 3,83 mg H₂O

C₂₀H₃₀O₃ Ber. C 75,42 H 9,50%
 Gef. „, 75,30 „, 9,51%

$[\alpha]_D^{20} = +51^{\circ}$ ($c = 1,003$ in Alkohol)

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

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba* in Basel,
 Pharmazeutische Abteilung.