

241. Darstellung von 14 α -Methyltestosteron aus 3 β -Hydroxy-4,4,14 α -trimethyl-17 β -acetoxy-5 α -androstan

Über Steroide und verwandte Naturprodukte, XX. Mitteilung¹⁾²⁾

von **George R. Pettit** und **P. Hofer**

(14. VIII. 63)

Gegenwärtig wird angenommen, dass eine der wichtigen biologischen Umwandlungen von Lanosterol (I) zu Testosteron über Cholesterol, Pregnenolon, Progesteron, 17 α -Hydroxyprogesteron und 3,17-Dioxoandrost-4-en verläuft³⁾. Von den verschiedenen strukturellen Anomalien, die beim *in-vivo* Abbau von Lanosterol auftreten könnten, erschien uns zunächst die Bildung von 14 α -Methylcholesterol⁴⁾ als möglich. Anschliessende Umwandlung des 14 α -Methylsterols könnte dann zu einer Reihe von 14 α -Methylsteroiden führen, die mit den natürlichen Hormonen verwandt wären⁶⁾. Um diese Hypothese auszuwerten, haben wir die Darstellung von 14 α -Methylprogesteron⁷⁾ und 14 α -Methyltestosteron unternommen, wobei uns die Bestimmung deren biologischer Wirksamkeit ebenfalls wichtig erschien⁸⁾.

Wir beschreiben nun genau den chemischen Abbau von Lanosterol zu 14 α -Methyltestosteron. Isocholesterol (rohes Lanosterol) wurde, wie früher berichtet⁴⁾, zu 3 β -Hydroxy-4,4,14 α -trimethyl-17 β -acetoxy-5 α -androstan (IIa) abgebaut. Der 3 β -Alkohol IIa liess sich leicht mit PCl₅ dehydratisieren und zum Isopropyliden-Derivat III umlagern⁷⁾. Die Solvolyse des Tosylesters IIb in Eisessig erwies sich als ungeeignet für eine präparative Darstellung des Olefins III, da nur schwer kristallisierbare Mischungen entstanden, obwohl unter gleichen Bedingungen aus 3 β -*p*-Toluolsulfonyloxy-5 α -lanost-8-en gute Ausbeuten an dem entsprechenden Olefin

1) XIX. Mitteilung: G. R. PETTIT, G. DUNN & B. GREEN, *Steroids* 7, im Druck (1963).

2) Das Ergebnis der Arbeit wurde kurz publiziert in *Experientia* 19, 76 (1963). – Die Arbeit wurde durch die PHS Forschungs-Fonds CY-4074 (C3) und CA-04074-05 des NATIONAL CANCER INSTITUTE, Public Health Service, unterstützt.

3) Cf. L. SACHS, *Arzneimittel-Forsch.* 12, 244 (1962), und E. HEFTMANN & E. MOSETTIG, *Biochemistry of Steroids*, Reinhold Pub. Corp., New York 1960, p. 138.

4) G. R. PETTIT, P. HOFER, W. J. BOWYER, T. R. KASTURI, R. C. BANSAL, R. E. KADUNCE & B. GREEN, *Tetrahedron* 19, 1143 (1963).

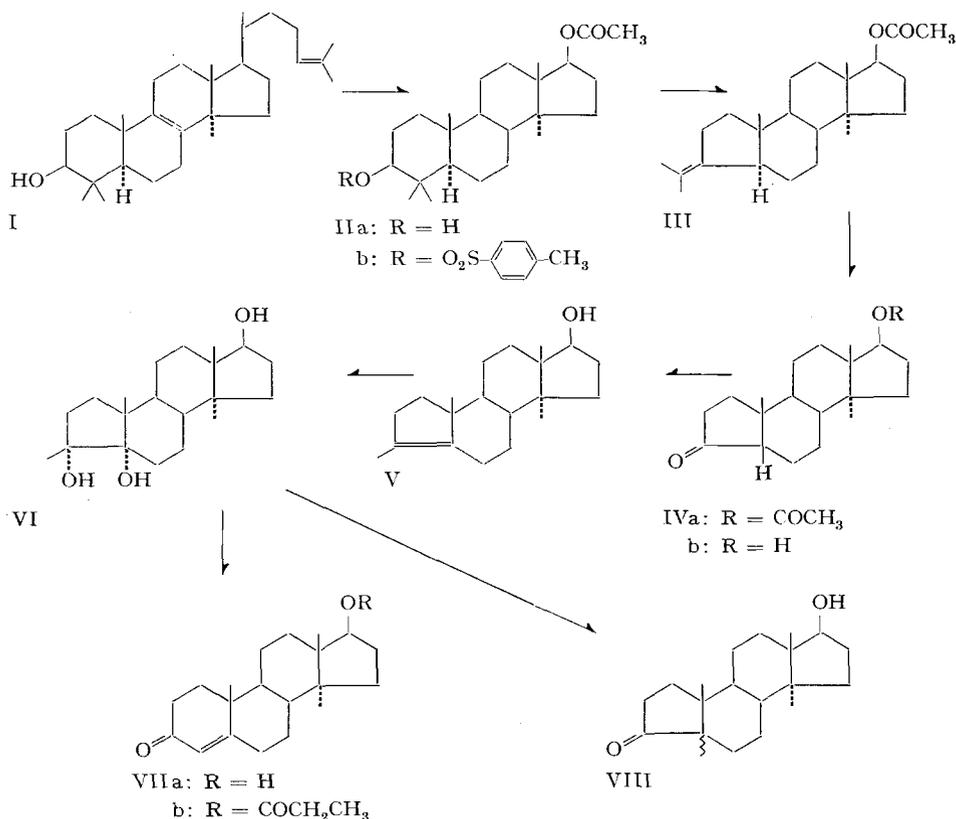
5) Kürzlich wurde gezeigt, dass Macdougallin, ein neues aus dem Kaktus *Peniocereus macdougalli* CUT isoliertes Sterol, 3 β ,6 α -Dihydroxy-14 α -methyl-5 α -cholest-8-en entspricht: C. DJERASSI, J. C. KNIGHT & D. I. WILKINSON, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 835 (1963). Wir danken Herrn Prof. DJERASSI für die der Publikation vorangegangene persönliche Mitteilung. – Über die Isolierung eines 4-Methylen-14 α -methyl-steroid-Alkaloids (Cyclobuxine) von *Buxus sempervirens* L. wurde ebenfalls berichtet: K. S. BROWN JR. & S. M. KUPCHAN, *J. Amer. chem. Soc.* 84, 4592 (1962).

6) Die Isolierung von Macdougallin⁵⁾, das erste Beispiel eines natürlichen 14 α -Methylcholesterols, gibt zu der Vermutung Anlass, dass 14 α -Methylsterole auch in tierischem Gewebe vorkommen können.

7) G. R. PETTIT & P. HOFER, *J. chem. Soc.* 1963, im Druck.

8) Die 14 α -Methylsterole wurden zu endocrinologischen Studien den NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, U. S. Public Health Service, zugesandt.

erhalten wurden⁹⁾. Die nachfolgende Umwandlung zum 14 α -Methyltestosteron (VIIa) über Keton IV, Olefin V und Triol VI wurde analog der Umformung von Ring A bei der Synthese von 14 α -Methylprogesteron⁷⁾ ausgeführt. Eine Beobachtung bei der OsO₄-Oxydation möchten wir jedoch erwähnen. Wurde der Osmiumester von Glykol VI in nur durch Destillation gereinigtem Methanol gelöst und



das Reaktionsgemisch nach der H₂S-Behandlung erhitzt, so entstand als Hauptprodukt ein Keton. Arbeitet man jedoch mit Methanol, das über K₂CO₃ destilliert wurde, und ohne Erhitzen, dann treten jeweils nur Spuren dieses Ketons auf, wie aus dem Dünnschichtchromatogramm hervorgeht. Auf Grund der Elementaranalyse und des IR.-Spektrums ordnen wir diesem neuen Keton vorläufig Formel VIII zu. Wir unterwarfen nun das Glykol VI unter verschiedenen Bedingungen der Pinacol-Umlagerung¹⁰⁾. Während mit Jod in Eisessig nur ein wüstes Gemisch erhalten wurde, konnte mit konzentrierter Salzsäure in Methanol als Hauptprodukt das Keton VIII isoliert werden. Ein ähnliches Keton, ausgehend vom entsprechenden 3 α , 5 α -Epoxid, wurde schon in der 14 α -H-Reihe beschrieben¹¹⁾. Da jedoch die ORD-

⁹⁾ C. W. SHOPPEE & G. A. R. JOHNSON, J. chem. Soc. 1961, 3261.

¹⁰⁾ C. COLLINS, Quart. Rev. 14, 357 (1960).

¹¹⁾ PAULET & BASCOUL, Bull. Soc. chim. France 1962, 401.

Kurven¹²⁾ entgegengesetzte COTTON-Effekte aufweisen, ist natürlich eine Umlagerung komplexerer Natur nicht auszuschliessen.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf einem FISCHER-JOHNS-Block bestimmt und sind korrigiert. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in Chloroform, Waschen mit Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Als Al_2O_3 wurde F-20 (80–200 mesh) der ALUMINUM CO. OF AMERICA verwendet. Die Dünnschichtchromatogramme wurden mit Silicagel G (E. MERCK A.G.) zubereitet und mit konzentrierter H_2SO_4 entwickelt.

Die Elementaranalysen wurden von Dr. A. BERNHARDT, MAX-PLANCK-INSTITUT, Mülheim (Deutschland) ausgeführt. Die optischen Drehungen (Chloroformlösung) wurden im mikroanalytischen Labor von Dr. C. JANSSEN, Beerse (Belgien) gemessen. Die UV.- und IR.-Spektren (in absolutem Alkohol bzw. in KBr) wurden in diesem Institut von Dr. R. A. HILL aufgenommen.

Verwendete Abkürzungen: Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$, Ac = Diäthyläther, An = Aceton, Bz = Benzol, DChr = Dünnschichtchromatogramm, Chf = Chloroform, Ee = Essigester, He = *n*-Hexan, Me = Methanol, ML = Mutterlaugenrückstände, Ng = Niederschlag, Py = Pyridin, W = Wasser, ZT = Zimmertemperatur.

3-Isopropyliden-14 α -methyl-17 β -acetoxy-A-nor-5 α -androstan (III). – a) *Durch Solvolyse des p-Toluolsulfonylestere IIb:* 500 mg *p*-Toluolsulfonylchlorid in 5 ml Py und 250 mg 3 β -Hydroxy-4,4,14 α -trimethyl-17 β -acetoxy-5 α -androstan (IIa) in 15 ml Py wurden zusammengegossen und 4 Tage bei ZT stehengelassen, worauf die Lösung mit Eis-W versetzt wurde. Die übliche Aufarbeitung ergab nach Ansäuern mit 2N H_2SO_4 370 mg rohes Tosylat IIb. Aus An kleine Kristalle vom Smp. 140–141°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4,4^\circ$ ($c = 1,14$).

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_5\text{S}$	Ber.	C 70,15	H 8,74	O 15,07	S 6,04%
(530,78)	Gef. ¹³⁾	„ 69,62; 70,14	„ 8,54; 9,08	„ 16,19	„ 5,04%

330 mg rohes Tosylat IIb wurden mit 250 mg wasserfreiem NaOAc ¹⁴⁾ in 50 ml AcOH 3 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Die Essigsäure wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand ergab nach üblicher Aufarbeitung 250 mg eines Harzes, das in Hexan an 10 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. He-Bz-(9:1) eluierte 230 mg III, Kristallisation aus An ergab jedoch nur 25 mg Kristalle vom Smp. 129–137°, obwohl ein DChr in He-Ee-(19:1) des Rohmaterials nur *einen* Fleck zeigte. Misch-Smp. mit Kristallen von b) zeigte keine Depression.

b) *Mit PCl_5 :* Eine eiskalte Lösung von 3,0 g 3 β -Alkohol IIa in Bz (350 ml) – Toluol (75 ml) wurde mit 3,3 g PCl_5 30 Min. bei 0° gerührt. Nach Zugabe von 2N Na_2CO_3 -Lösung wurde die organische Phase abgetrennt, mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum zur Trockne gebracht. Die Reaktion wurde zweimal mit 2,6 g des Alkohols IIa wiederholt. Eine He-Lösung der vereinigten Rohprodukte wurde an 260 g Al_2O_3 chromatographiert. Kristallisation der mit He-Bz-(4:1) eluierten Fraktionen ergab aus Ac-Me 4,95 g (63%) III, Plättchen vom Smp. 150–154°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8,5^\circ$ ($c = 0,70$); IR.-Spektrum: λ_{max} 5,75 μ .

$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_2$	(358,54)	Ber.	C 80,39	H 10,68%	Gef.	C 80,17	H 10,78%
--	----------	------	---------	----------	------	---------	----------

3-Oxo-14 α -methyl-17 β -hydroxy-A-nor-5 β -androstan (IVb) aus III. – a) *Mit Isolierung des Acetylestere IVa:* Ein Strom von Ozon in O_2 wurde durch eine auf -50° gekühlte Chf-Lösung (50 ml) des Olefins III (350 mg) geleitet, bis die Oxydation vollständig erschien (Lösung 30 Min. lang blau). Die Lösung wurde mit 16 ml AcOH und ca. 2 g Zn-Staub versetzt; nach 1/2 Std. wurde filtriert und die Lösung wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand wurde in He-Bz-(2:3) gelöst und an 11 g Al_2O_3 chromatographiert. He-Bz-(2:3) und Bz eluierten 110 mg Substanz. Kristallisation aus Ac-Me gab 40 mg farblose Prismen vom Smp. 184–186°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +143,8^\circ$ ($c = 0,80$); IR.-Spektrum: λ_{max} 5,76 und 5,78 μ .

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$	(332,47)	Ber.	C 75,86	H 9,70%	Gef.	C 75,80	H 9,96%
--	----------	------	---------	---------	------	---------	---------

¹²⁾ Wir danken Herrn Prof. W. KLYNE für die Aufnahme des ORD.-Spektrums.

¹³⁾ Leider stand keine Substanz mehr zur Verfügung, um die O- und S-Bestimmungen zu wiederholen.

¹⁴⁾ Ohne NaOAc konnten unter den gleichen Bedingungen überhaupt keine Kristalle isoliert werden.

Verseifung mit 5-proz. methanolischer KOH während 24 Std. bei ZT ergab nach Aufarbeitung den Alkohol IVb vom Smp. 198–202°, Misch-Smp. mit dem unter b) beschriebenen Produkt ohne Depression.

b) *Direkt*: 2,0 g des Olefins III wurden wie unter a) beschrieben oxydiert und der rohe Acetyl-ester IVa in 50 ml 5-proz. methanolischer KOH verseift. Nach 22 Std. bei ZT wurde die Lösung mit W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet (1,7 g). Eine Bz-Lösung wurde an 51 g Al_2O_3 chromatographiert. Die Bz- und Bz-Chf-(4:1)-Fraktionen wurden vereinigt und ergaben nach Kristallisation aus An-He 730 mg (40%) des Alkohols IVb vom Smp. 195–200°. Durch nochmaliges Chromatographieren der ML konnte die Ausbeute auf 50% erhöht werden. Aus An-Ae Nadeln vom Smp. (200°) 204–212°; $[\alpha]_D^{20} = +170,2^\circ$ ($c = 0,43$); IR.-Spektrum: λ_{\max} 2,94 und 5,80 μ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$ (290,43) Ber. C 78,57 H 10,41% Gef. C 78,63 H 10,48%

3,14 α -Dimethyl-17 β -hydroxy-A-norandrost-3-en (V): Eine GRIGNARD-Lösung, zubereitet aus 2 ml Methyljodid, 250 mg Mg und 15 ml Ae, wurde mit einer Lösung von 100 mg 3-Keton IVb in 15 ml Methylchlorid 20 Std. unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit konzentrierter NH_4Cl -Lösung hydrolysiert und wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand wurde in 15 ml Me und 1 ml konz. HCl gelöst und 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach Zugabe von 2N Na_2CO_3 -Lösung wurde das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet (100 mg). Eine He-Bz-(4:1)-Lösung wurde an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Bz-He-(3:1) und Bz eluierten 65 mg Olefin V (65%), das im DChr einheitlich war und als solches für die folgende Reaktion verwendet wurde. Aus He konnten Nadeln vom Smp. 127–129° gewonnen werden; $[\alpha]_D^{20} = +94,7^\circ$ ($c = 0,56$); IR.-Spektrum: λ_{\max} 3,08 μ .

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$ (288,46) Ber. C 83,27 H 11,18% Gef. C 83,82; 82,68 H 11,04; 11,16%

Aus den Chloroform-Fractionen wurden ca. 30 mg Ausgangsmaterial IVb zurückgewonnen.

3 β ,14 α -Dimethyl-3 α ,5 α ,17 β -trihydroxy-A-norandrostan (VI): 65 mg Olefin V und 130 mg OsO_4 wurden in 5 ml Bz gelöst und 48 Std. bei ZT stehen gelassen. Der entstandene Ng wurde in 15 ml Me gelöst und mit 50 ml Chf verdünnt. Nach 20 min. Durchleiten von H_2S wurde der Ng abfiltriert (Papier und Al_2O_3) und das Filtrat im Vakuum zur Trockne gebracht (70 mg). Kristallisation aus An-He gab 40 mg Prismen vom Smp. 204–207° und 15 mg vom Smp. 192–195° (total 76%). Umkristallisation ergab einen Smp. von 204–207°¹⁵); $[\alpha]_D^{20} = +40,1^\circ$ ($c = 0,52$); IR.-Spektrum: λ_{\max} 2,85–2,91 μ .

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$ (322,47) Ber. C 74,49 H 10,63% Gef. C 74,79 H 10,97%

Pinacol-Umlagerungsprodukt VIII des Glykols VI. – a) *Direkt aus dem Olefin V*: 100 mg Olefin V und 100 mg OsO_4 wurden in 10 ml trockenem Bz gelöst. Nach 48 Std. bei ZT wurde der Ng in wenig Me gelöst und 15 Min. mit H_2S behandelt. Die entstandene Suspension wurde heiss durch Papier filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand an 5 g Al_2O_3 chromatographiert. Bz-Chf-(4:1) bis -(3:7) eluierten 40 mg des Ketons VIII. Aus An-He 30 mg Prismen vom Smp. 264–265°; $[\alpha]_D^{20} = -29,0^\circ$ ($c = 0,35$); IR.-Spektrum: λ_{\max} 2,80 und 5,75 μ ; ORD.-Spektrum¹²): $[\phi]_{312,5} = -5170^\circ$, $[\phi]_{275} = +5260^\circ$.

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ (304,46) Ber. C 78,89 H 10,59 O 10,51% Gef. C 78,83 H 10,32 O 10,77%

Chf und Ee eluierten noch 30 mg des Glykols VI. Kristallisation aus An-He gab Prismen vom Smp. 197–201°. Misch-Smp. mit dem oben beschriebenen Präparat ohne Depression.

b) *Aus dem Glykol VI*: 55 mg Glykol VI wurden in 8 ml Me und 0,5 ml konz. HCl 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Nach Zugabe von 2N Na_2CO_3 -Lösung wurde das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet (55 mg). Ein DChr in He-Ee-(3:2) zeigte 5 Flecke. Eine Bz-Lösung wurde an 1,7 g Al_2O_3 chromatographiert. Bz-Chf-(9:1) und -(4:1) eluierten 20 mg VIII, die aus An-He 15 mg Prismen vom Smp. 266–267° ergaben; Misch-Smp. mit dem unter a) beschriebenen Präparat ohne Depression.

3-Oxo-14 α -methyl-17 β -hydroxy-androst-4-en (VIIa) und dessen Propionylester (VIIb): 200 mg cis-Glykol VI, gelöst in 15 ml Chf, wurden mit 300 mg $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ in 15 ml AcOH versetzt. Nach 45 Min. wurden einige Tropfen Diäthylenglykol zugegeben. Nach weiteren 15 Min. wurde mit W

¹⁵) Eine beobachtete Abhängigkeit des Smp. von der Aufheizgeschwindigkeit kann durch die Pinacolumlagerung bedingt sein.

versetzt und wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand (200 mg) wurde in 60 ml 3-proz. methanolischer NaOH gelöst und bis zur schwachen Gelbfärbung auf dem Dampfbad erhitzt (2–4 Min.). Nach 2 Std. bei ZT wurde mit W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet (200 mg). Kristallisation aus Ae gab 100 mg Prismen vom Smp. 179–186°. Filtrieren durch wenig Al₂O₃ und Kristallisation aus An-Ae gab reines Keton VIIa vom Smp. 189–191°; $[\alpha]_D^{20} = +157,8^\circ$ ($c = 0,66$); UV.-Spektrum: λ_{max} 241 m μ ($\log \epsilon = 4,23$); IR.-Spektrum: λ_{max} 2,74; 5,98 und 6,16 μ .

C₂₀H₃₀O₂ (302,44) Ber. C 79,42 H 10,00 O 10,58% Gef. C 79,46 H 9,82 O 10,71%

Eine Bz-Lösung der vereinigten ML (120 mg aus 260 mg Glykol VI) wurde an 3,6 g Al₂O₃ chromatographiert. Bz-Chf-(4:1) und -(3:7) eluierten 50 mg VIIa. Kristallisation aus An-He gab weitere 45 mg (Gesamtausbeute 72%) 14 α -Methyltestosteron (VIIa) vom Smp. 189–191°.

50 mg VIIa (ML aus Umkristallisation) wurden in 8 ml Py und 6 ml Propionsäureanhydrid gelöst. Nach 24 Std. bei ZT wurden die Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand an 4 g Al₂O₃ chromatographiert. Bz-He-(3:2) und Bz eluierten 60 mg VIIb. Kristallisation aus He gab 30 mg Plättchen vom Smp. 149–150°; $[\alpha]_D^{20} = +120,9^\circ$ ($c = 0,42$).

C₂₃H₃₄O₃ (358,50) Ber. C 77,05 H 9,56 O 13,39% Gef. C 77,09 H 9,33 O 13,42%

SUMMARY

Employing a twenty-step reaction sequence, lanosterol has been degraded to 14 α -methyl-testosterone. Possible formation of 14 α -methylsteroids *in vivo* is discussed.

Department of Chemistry, University of Maine,
Orono, Maine, USA.

242. Das Trennrohr XXVI. Die Konzentrationsverteilung polynärer isotoper Gemische im geschlossenen Trennrohr¹⁾

von Klaus Clusius^{†2)} und Eva Varde

(15. VIII. 63)

1. – Die Einrichtung eines Rechenzentrums an der Universität Zürich mit dem elektronischen Datenverarbeiter IBM 1620 hat uns eine günstige Gelegenheit verschafft, die alte Frage zu beantworten, wie sich die Komponenten eines nach Menge und Konzentration vorgegebenen polynären Isotopengemisches längs einer Trennrohranlage endlicher Länge verteilen. Diese Aufgabe ist einfach, wenn an einer Stelle der Trennanlage die Isotopenkonzentrationen bekannt und während des gesamten Trennprozesses konstant sind^{1) 3) 4)}. Dies trifft zu, wenn irgendwo ein unendlich grosser Vorrat des Gasgemisches angeschlossen ist, weil dann während des Entmischungsvorganges die Ausgangskonzentration der einzelnen Isotope an dieser Stelle bis zur Einstellung des Gleichgewichts dauernd aufrechterhalten bleibt. In diesem Falle sind die Verteilungsfunktionen eindeutig bestimmt und unabhängig von der Länge der Trennanlage. Eine wichtige Folge davon ist, dass durch Verlängerung

1) Trennrohr XXV: K. CLUSIUS & E. VARDE, Helv. 45, 2273 (1962).

2) Verstorben am 28. V. 1963.

3) E. SCHUMACHER, Helv. 36, 949 (1953).

4) K. CLUSIUS & K. SCHLEICH, Helv. 45, 1702 (1962).