

Auswertung des Testosteron-diacetates im Hahnenkammtest²⁷⁾.

Dosis in einmaliger subkutaner Injektion in Sesamöl an je 3 Tiere verabreicht; Durchschnitt der Höchstwerte, die jeweils etwa am 5. Tag erreicht wurden:

Dosis	50 γ	100 γ	150 γ	200 γ
Flächenwachstum	9.2 %	11.1 %	26.3 %	37.6 %

Prüfung des Progesteron-enol-acetates im Clauberg-Test auf protrahierte Wirksamkeit.

Den infantilen Kaninchen wurde nach üblicher Vorbehandlung mit Follikelhormon²⁹⁾ das Progesteron-enol-acetat in ölgiger Lösung, über 5 Tage verteilt, injiziert. Die histologische Prüfung wurde an je 2 Tieren am 6., 9. und 12. Tage vorgenommen. Weder bei Verabreichung der K. E. (1.2 mg) noch bei 5-facher Überdosierung (6 mg) ließ sich am 9. Tag noch eine Reaktion an der Uterusschleimhaut erkennen. Vergleichsversuche mit Progesteron in entsprechender Dosierung (0.6 bzw. 3 mg) zeigten am 9. Tag ebenfalls keine bzw. ganz geringe Wirksamkeit. Am 12. Tage war das Ergebnis in allen Fällen völlig negativ.

366. Ulrich Westphal und Heinrich Hellmann: Über Versuche zur partiellen Reduktion des Androstendions.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr u. d. Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 23. September 1937.)

Seit einiger Zeit haben wir uns mit Versuchen zur partiellen Reduktion des Δ^4 -Androsten-dions-(3.17) (I) beschäftigt, die uns hoffen ließen, zu Vertretern der Testosterongruppe zu gelangen. Wenn es gelingt, die Oxogruppe am C-Atom 3 vor der Anlagerung von Wasserstoff zu schützen und nur die Ketogruppe C_{17} zu reduzieren, muß man einen Stoff von der Struktur des Testosterons (IV) erhalten.

Das Ziel einer solchen Darstellung des Testosterons durch partielle Reduktion des Androstendions ist nun vor kurzer Zeit von L. Mamoli und A. Vercellone¹⁾ auf einem besonders eleganten Wege erreicht worden: diese Autoren ließen auf das ungesättigte Diketon gärende Hefe einwirken, die in spezifischer Weise nur die Oxogruppe am C-Atom 17 reduziert und in glatter Reaktion das Testosteron entstehen läßt.

Wir selbst führten die partielle Reduktion des Androstendions zum Testosteron in der Weise durch, daß wir die Ketogruppe C_3 durch Semicarbazonbildung (II) schützten²⁾ und darauf die Oxogruppe am C-Atom 17 reduzierten (III). Obwohl wir uns dessen bewußt sind, daß diese Darstellungsweise, die das Testosteron (IV) nur in geringer Ausbeute zu erhalten gestattet,

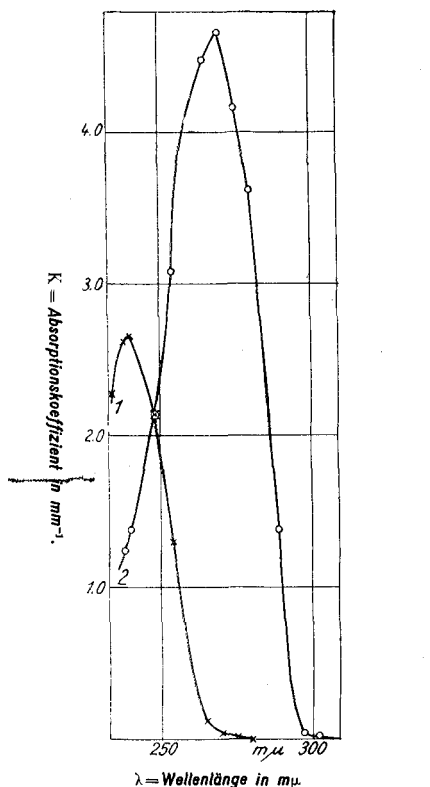
¹⁾ B. **70**, 470 [1937].

²⁾ Es sei erwähnt, daß Asahina u. Ishidate (B. **67**, 1202 [1934]) bei der Darstellung des 10-Oxy-camphers aus dem *d*-Keto-pinsäure-ester ebenfalls die Semicarbazongruppierung zum Schutze der Ketogruppe gegen Reduktion mit Natrium und Alkohol verwendet haben.

den bekannten Testosteron-, „Synthesen“³⁾ bei weitem nachsteht, und daß die biochemische Hydrierung des Androstendions zum Testosteron⁴⁾ wohl schwerlich von einer chemischen Methode übertroffen werden kann, möchten wir im Hinblick auf die Arbeit der italienischen Forscher unsere Erfahrungen doch kurz mitteilen, da sie zeigen, daß es prinzipiell auch auf rein chemischem Wege möglich ist, Testosteron durch partielle Reduktion des Androstendions zu erhalten.

Das Δ^4 -Androstendion-(3.17)-monosemicarbazon-(3) (II) wurde durch Umsetzung des Diketons (I) mit 1 Mol. Semicarbazid-acetat gewonnen; es schmilzt bei 245° (unter Zers.) und ist in den meisten organischen Lösungsmitteln sehr schwer löslich. Zur Bestätigung der von vornherein wahrscheinlichsten Annahme, daß das bei den Steroiden im allgemeinen besonders reaktionsfähige Sauerstoffatom am C-Atom 3 mit dem Semicarbazid reagiert hat, wurde das Ultraviolett-Absorptionsspektrum⁴⁾ herangezogen. α , β -ungesättigte Ketone zeigen im ultravioletten Licht eine selektive Absorption, deren Maximum bei ungefähr 240 m μ liegt⁵⁾ (vergl. Fig. 1, Kurve 1 des Androstendions). Beim Ersatz der Oxogruppe durch die Semicarbazongruppierung tritt eine Verschiebung des Absorptionsmaximums nach längeren Wellen ein, die bei den α , β -ungesättigten Sterinketonen etwa 30—35 m μ beträgt^{5) 6)}. Das von dem Monosemicarbazon des Androstendions erhaltene Absorptionsmaximum bei 270 m μ (vergl. Fig. 1, Kurve 2) zeigt, daß sich die Semicarbazonbildung an der α , β -ungesättigten Ketogruppe vollzogen hat.

Die Reduktion des Androstendion-monosemicarbazons (II) zum Semicarbazon des Testosterons (III) gelang mit Natrium in Isopropylalkohol bei Siedetempe-



Kurve 1. Δ^4 -Androstendion-(3.17); 0.02-proz. Lösung in Chloroform
Kurve 2. Δ^4 -Androstendion-(3.17)-monosemicarbazon-(3); 0.02-proz. Lösung in Chloroform

Fig. 1. Absorptionsspektren.

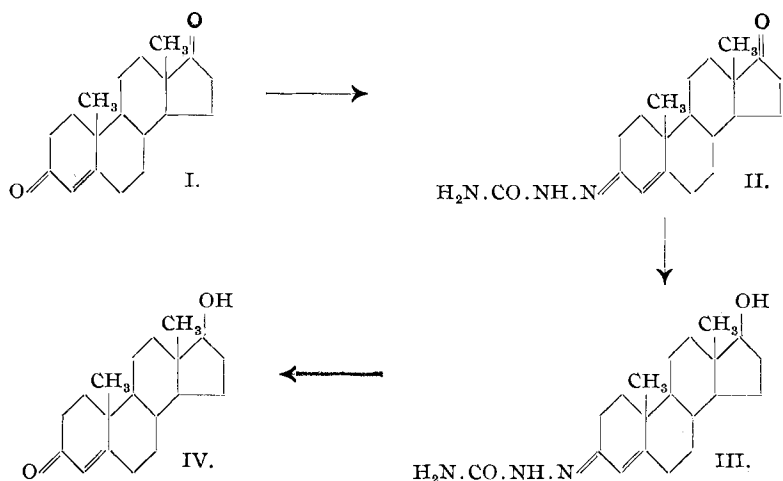
³⁾ A. Butenandt u. G. Hanisch, B. **68**, 1859 [1935]; Zschr. physiol. Chem. **237**, 89 [1935]; L. Ruzicka u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **18**, 1264, 1478 [1935].

⁴⁾ Die Aufnahmen der Absorptionsspektren führte Hr. cand. chem. Eckhardt im Allgem. Chem. Laborat. d. Universität Göttingen aus.

⁵⁾ W. Menschick, I. H. Page u. K. Bossert, A. **495**, 225 [1932].

⁶⁾ E. Dane, Y. Wang u. W. Schulte, Ztschr. physiol. Chem. **245**, 80 [1937]; F. Wetter u. K. Dimroth, B. **70**, 1665, 2033 [1937].

atur. Das Testosteron-semicarbazon wurde nicht in reiner Form isoliert, sondern als Rohprodukt gespalten; es wurde ein unscharf bei 154—156° schmelzender Stoff erhalten, der sich als ein Gemisch erwies; er bestand im wesentlichen aus Testosteron (IV) und Androstendiol, das seine Bildung einer vorzeitigen Abspaltung der Semicarbazidgruppe bei der Reduktion verdankt. Da das Androstendiol, dessen Menge sich aus der optischen Drehung des Gemisches zu etwa 15 % schätzen ließ, infolge Mischkrystallbildung durch Umkrystallisieren nicht entfernt werden konnte, wurde das Mischkrystallisat mit dem Girardschen „Ketonreagens T“, dem Chlorid des Trimethylammonium-essigsäurehydrazids⁷⁾, umgesetzt und nach Abtrennung des ketonfreien Anteils reines Testosteron (IV) vom Schmp. 153° bis 154°⁸⁾ erhalten, das durch physikalische, chemische und physiologische Eigenschaften identifiziert wurde.



Während sich das Monosemicarbazon des Androstendions als noch nicht völlig reines Produkt vom Zersetzungspunkt 234° in einer Ausbeute von 80—85 % bildet, treten bei der Reduktion und anschließenden Verseifung große Verluste ein, so daß an reinem Testosteron nur etwa 5—10 % (bezogen auf Monosemicarbazon) entstehen. Einige weitere Reduktionsversuche nach verschiedenartigen Methoden sind im Versuchsteil genannt.

Hrn. J. Paland haben wir für wertvolle Hilfe bei der Darstellung des Monosemicarbazons zu danken; die Schering-Kahlbaum-A.-G. unterstützte unsere Arbeit durch Belieferung mit Ausgangsmaterial.

Beschreibung der Versuche.

Δ^4 -Androstendion-(3.17) (I).

Das Androstendion wurde aus Dehydro-androsteron nach den Angaben der Literatur durch Oxydation entweder mit Chromsäure unter vorüber-

⁷⁾ A. Girard u. G. Sandulesco, *Helv. chim. Acta* **19**, 1095 [1936].

⁸⁾ alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

gehendem Schutz der Doppelbindung mit Brom⁹⁾ oder mit Aluminiumisopropylat und Aceton¹⁰⁾ dargestellt.

Zu Vergleichszwecken wurde die optische Drehung in Chloroform bestimmt: 22.9 mg Sbst., in 2 ccm absol. Chloroform gelöst, $l = 1$ dm, $\alpha_D^{25} : +2.26^\circ$; $[\alpha]_D^{25} : +197.4^\circ$.

3-Monosemicarbazon des Androstendions (II).

Zu der Lösung von 1.0 g Androstendion vom Schmp. 169° in 50 ccm Äthanol wurde in der Kälte die 1 Mol. entspr. Menge Semicarbazid-acetat (aus 386 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 285 mg wasserfreiem Natriumacetat in wenig Wasser bereitet) gegeben. Nach $\frac{1}{2}$ -stdg. gelinden Sieden wurde bis zur beginnenden Trübung mit heißem Wasser (etwa 100 ccm) versetzt und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Es schieden sich 1.02 g Monosemicarbazon vom Zers.-Pkt. 234° ab; nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus verd. und reinem Alkohol bildete es entweder einzelne Drusen feiner Nadeln oder schwere, stark lichtbrechende, von regelmäßigen Sechsecken begrenzte Krystalle, die konstant bei 245° unter Zers. schmolzen. Das Monosemicarbazon ist in geringem Grade löslich in Chloroform, Eisessig, Pyridin und Piperidin, in der Hitze auch in Äthyl-, Isopropyl- und Amylalkohol sowie in Dioxan. Sehr schwer löslich oder unlöslich ist es in Äther, Benzol, Essigester, Butanol, Cyclohexan, Malonester und Methylbenzoat.

4.940, 3.902 mg Sbst.: 12.585, 9.920 mg CO_2 , 3.750, 2.960 mg H_2O . — 2.980 mg Sbst.: 0.326 ccm N_2 (25° , 747 mm).

$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_3$. Ber. C 69.92, H 8.52, N 12.24. Gef. C 69.48, 69.35, H 8.49, 8.49, N 12.32.

Reduktion des Androstendion-monosemicarbazons mit Natrium und Isopropylalkohol.

300 mg Monosemicarbazon vom Schmp. 245° wurden in 75 ccm absol. Isopropanol gelöst und in der Siedehitze während 25 Min. mit Natrium bis fast zur Sättigung versetzt. Das heiße Gemisch wurde schnell ausgegossen, vom unverbrauchten Natrium befreit, die erstarrte Krystallmasse in Wasser gelöst und unter Kühlung mit verd. Schwefelsäure bis zur schwach alkalischen Reaktion neutralisiert. Das Reaktionsprodukt wurde sorgfältig mit Äther oder Chloroform ausgezogen und aus verd. Alkohol krystallisiert erhalten. Ausb. 245 mg vom Schmp. $160\text{--}185^\circ$. In entspr. Weise gelang die Reduktion auch mit Natrium in Äthanol, während mit Amylalkohol, offenbar wegen der höheren Siedetemperatur, kein krystallines Produkt erhalten wurde. Reduktionsversuche mit Aluminiumamalgam führten zu keinem Erfolg, ebenso wenig wie die Verwendung der magnesiumorganischen Verbindungen von *n*- und *iso*-Propylchlorid. Eine katalytische Hydrierung des Monosemicarbazons mit Wasserstoff und aktivem Nickel scheiterte an seiner schweren Löslichkeit; Versuche mit Piperidin und heißem Dioxan als Lösungsmittel waren erfolglos.

Spaltung des reduzierten Monosemicarbazons zum Testosteron (IV.).

Es erwies sich als günstig, das Testosteron-semicarbazon (III) ohne vorherige Isolierung direkt zu verseifen. 245 mg des bei $160\text{--}185^\circ$ schmelzenden Reduktionsproduktes wurden in einer Mischung von 20 ccm Alkohol und 10 ccm 2-*n*.wäßr. Schwefelsäure $\frac{1}{2}$ Stde. gekocht. Nach üblicher

⁹⁾ A. Butenandt u. H. Kudzusz, Ztschr. physiol. Chem. **237**, 75 [1935].

¹⁰⁾ R. V. Oppenauer, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **56**, 137 [1937]. Die Originalmethode verwendet *tert.* Al-butylat.

Aufarbeitung durch Ausäthern wurde das Produkt in wenig Essigester gelöst und mit niedrigsiedendem Petroläther angespritzt. Es krystallisierten 24 mg in schönen farblosen Drusen, die nach Umkrystallisieren aus Essigester-Petroläther, Essigester-Hexan und verd. Alkohol bei 154–156° schmolzen. Die optische Drehung dieses Mischkrystallisates betrug $[\alpha]_D^{20}$: + 79.2° (in Alkohol); unter der Annahme, daß es aus Testosteron ($[\alpha]_D$: + 104°) und Androstendiol ($[\alpha]_D$: – 55.5°) bestand, berechnet sich ein Testosterongehalt von ungefähr 85%. Der Mischschmelzp. dieses Krystallisates mit reinem Testosteron zeigt keine Depression.

Umsetzung mit dem Ketonreagens „T“ von Girard.

44 mg des Mischkrystallisates in 1 ccm Alkohol wurden mit einer Lösung von etwa 50 mg des Chlorides vom Trimethylammonium-essigsäurehydrazid („Ketonreagens T“) in 4 ccm Alkohol vereinigt und nach Zusatz von 0.5 ccm Eisessig $\frac{1}{2}$ Stde. in gelindem Sieden gehalten. Die Reaktionslösung wurde in Wasser gegossen, in dem zur annähernden Neutralisation der Essigsäure 420 mg Na_2CO_3 gelöst waren. Nach dem Entfernen des ketonfreien Anteils durch Ausäthern wurde die wäßrige Lösung mit verd. Schwefelsäure angesäuert; sie trübte sich und wurde nach 5-stdg. Aufbewahren bei Zimmertemperatur ausgeäthert. Es wurde reines Testosteron erhalten, das nach Umkrystallisieren aus verd. Alkohol bei 153–154° schmolz.

2.741 mg Sbst.: 7.960 mg CO_2 , 2.460 mg H_2O .

$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_2$. Ber. C 79.11, H 9.79. Gef. C 79.20, H 10.04.

Optische Drehung: 6.430 mg Sbst., in 2 ccm absol. Alkohol gelöst, $l = 1$ dm. α_D^{20} : + 0.34°; $[\alpha]_D^{20}$: + 105.7°.

Die physiologische Auswertung im Hahnenkammtest ergab 30–50 γ für die Kapaunen-Einheit. Von dem erhaltenen Testosteron wurden in üblicher Weise das Acetat und Oxim dargestellt; beide Stoffe zeigten die gleichen Schmelzpunkte (137° bzw. 215°) wie die entsprechenden Derivate³⁾ des auf anderem Wege gewonnenen Testosterons und gaben bei der Mischprobe mit ihnen keine Depression.

367. H. Staudinger und A. E. Werner: Über hochpolymere Verbindungen, 175. Mitteil.¹⁾: Über die K_m -Konstante der Celluloseacetate.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 13. September 1937.)

Das Molekulargewicht bzw. der Polymerisationsgrad von Cellulosen und Cellulose-Derivaten läßt sich durch Viscositätsmessungen auf Grund folgender Gleichung bestimmen:

$$\eta_{sp}/c_{gm} = K_m \times M \quad (1)$$

Die K_m -Konstante wird dabei experimentell ermittelt durch Bestimmung der spezif. Viscosität von Produkten, deren Molekulargewicht durch irgendeine andere Methode bekannt ist. In den ersten Untersuchungen wurde die K_m -Konstante an Oligosaccharidacetaten von L. Zechmeister²⁾ und nieder-

¹⁾ 174. Mitteil.: E. Sauter, Ztschr. physik. Chem. (B) **37**, 161 [1937]; zugleich 28. Mitteil. über Cellulose; 27. Mitteil.: H. Staudinger u. M. Sorkin, B. **70**, 1993 [1937].

²⁾ L. Zechmeister u. G. Toth, B. **64**, 854 [1931].