

14-stdg. Kochen von 0.07 Mol des Äthers mit 0.2 Mol der Grignard-Verbindung ergab 87% Ausb. an Guajacol. Brenzcatechin konnte weder im Destillationsrückstand noch im wäßr. Auszug des überdestillierten Guajacols noch in dem ätherischen Nachextrakt der gesamten bei der Aufarbeitung angefallenen wäßr. Schichten nachgewiesen werden. Die gewaschene, mit Äther verdünnte Neutralschicht wurde mit 8 g Brom über Nacht im Dunkeln stehen gelassen. Nach Entfernung des überschüssigen Broms ergab die Fraktionierung 6.5 g 1.2-Dibrom-hepten entspr. einer Ausbeute von 36% d. Th. an Hepten.

Phenylcinnamyläther¹⁶⁾: 0.06 Mol des Äthers lieferte, mit 0.1 Mol Phenylmagnesiumbromid in Äther 10 Stdn. auf 65—70° erhitzt, 51% Ausb. an Phenol.

Phenylbenzyläther: 15.3 g = $\frac{1}{12}$ Mol wurden mit $\frac{1}{10}$ Mol Butylmagnesiumbromid 16 Stdn. auf 80° erhitzt. Nach Zugabe von Äther und vorsichtiger Zersetzung wurde mit Alkali gewaschen. Aus den alkal. Auszügen wurden nach Ansäuern durch Äther 0.4 g eines Öls ausgezogen, das sich bei der Destillation größtenteils zersetzte. Aus dem Neutralteil wurden durch Vakuumdestillation 14.1 g = 92% des Ausgangsmaterials vom Sdp.₁₂ 151° bis 152° zurückgewonnen.

Die Analysen verdanken wir Hrn. Dipl.-Ing. F. Schwaiger, Berlin-Dahlem.

283. Adolf Butenandt und Heinz Dannenberg: Über Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3), ein Isomeres des Testosterons.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 19. Juli 1938.)

Vor einiger Zeit¹⁾ haben wir darüber berichtet, daß man das Androstandion-(3.17) (I) und das Androstanol-(17)-on-(3) (II) durch Behandlung mit 1 Mol. Brom in ihre 2-Brom-Derivate (III und IV) überführen kann. Durch Umsetzung mit Kaliumacetat in Eisessiglösung bei 200° ist es uns seinerzeit gelungen, das 2-Brom-androstandion (III) unter Abspaltung von einem Mol. Bromwasserstoff in das Δ^1 -Androsten-dion-(3.17) (V) überzuführen, das überraschenderweise — im Gegensatz zum Ausgangsmaterial — die Eigenschaften eines stark östrogenen Wirkstoffes besitzt.

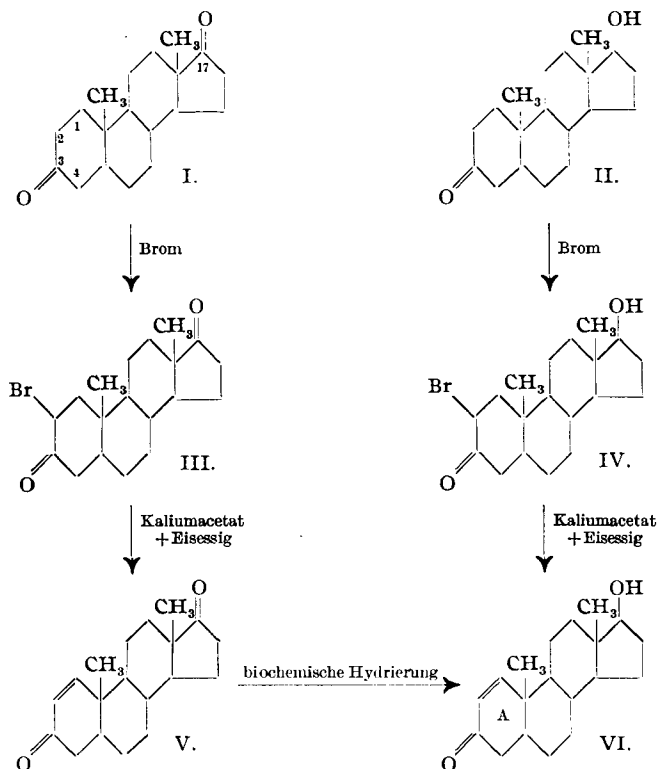
Angeichts dieses bemerkenswerten physiologischen Befundes haben wir uns bemüht, nach gleichartiger Methodik auch aus dem 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3) (IV) Bromwasserstoff abzuspalten, um auf diese Weise zum Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3) (VI) zu gelangen, das sich vom höchst wirksamen männlichen Keimdrüsenhormon Testosteron nur durch die Lage der Doppelbindung im Ring A unterscheidet. Trotz vielfacher Variation der Versuchsbedingungen ist uns jedoch die Darstellung des Δ^1 -Androstenolons (VI) aus dem 2-Brom-androstenolon nur in äußerst geringer Ausbeute möglich gewesen: Behandelt man 2-Brom-androstanolon (IV) oder sein Monoacetat (Schmp. 177—178° unkor.) mit Kaliumacetat und Eisessig bei höherer Temperatur, so entstehen schwer trennbare Stoffgemische, aus denen wir das gewünschte Δ^1 -Androstenolon (VI) nur

¹⁶⁾ Hurd, Journ. Amer. chem. Soc. **59**, 107 [1937].

¹⁾ A. Butenandt u. H. Dannenberg, B. **69**, 1158 [1936].

in Gestalt des Oxims seines Acetates (Schmp. 213—215°) in einer Ausbeute von etwa 2% abscheiden konnten.

Es mag Erwähnung finden, daß bei der Umsetzung des 2-Brom-androstanolons (IV) mit Kaliumacetat und Eisessig bei 200° in kleiner Menge (3%) ein bei 208° schmelzender, gut kristallisierender Stoff aufgefunden wurde, dessen analytische Zusammensetzung am besten mit der Formel $C_{21}H_{28}O_3$ vereinbar ist. Die Verbindung gibt ein charakteristisches Absorptionsspektrum, das Maxima bei 238 und 280 m μ zeigt (s. Abbild.) und an das Spektrum des Oestrons erinnert. Aus Mangel an Material konnte die Konstitution der neuen Verbindung und ihre Entstehungsart nicht aufgeklärt werden; im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus zeigt sie mit einer Dosis von 60 γ noch keine physiologische Wirksamkeit.



Nachdem sich die Darstellung des Δ^1 -Androstenolons (VI) durch Einführung einer Doppelbindung in das gesättigte Androstanolon (II) als schwer durchführbar erwiesen hatte, haben wir seine Darstellung auf einem prinzipiell anderen Wege vollzogen. L. Mamoli und A. Vercellone²⁾ haben in einer Reihe bemerkenswerter Untersuchungen gezeigt, daß gärende Hefe instande ist, Oxo-Derivate der Androstan-Reihe zu den entsprechenden Alkoholen zu reduzieren, sofern die Carbonyl-Gruppe nicht durch die Nachbarstellung einer Doppelbindung vor dem reduzierenden Angriff geschützt ist. Nach diesen Ergebnissen mußte es möglich sein, das durch Bromwasserstoff-Abspaltung aus 2-Brom-androstandion früher¹⁾ von uns bereitete Δ^1 -Andro-

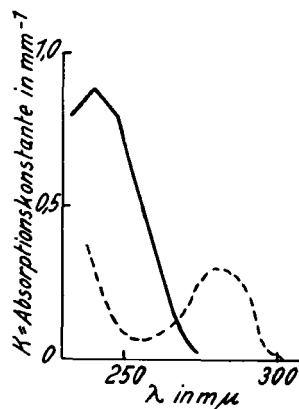
²⁾ B. 70, 470, 2079 [1937]; Ztschr. physiol. Chem. 245, 93; 248, 277 [1937].

stendion (V) durch Einwirkung von gärender Hefe in nur einer Reaktionsstufe in das gewünschte Δ^1 -Androstenolon (VI) überzuführen. Das Ergebnis des Versuchs entsprach unseren Erwartungen: Läßt man eine alkohol. Lösung von Δ^1 -Androsten-dion-(3.17) zu einer mit Bäckerhefe versetzten Fruktose-Lösung unter Rühren tropfen und das Gemisch 3 Tage gären, so bildet sich das Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3) als einzig faßbares Reduktionsprodukt in einer Ausbeute von 83% d. Th. Das neue Isomere des Testosterons zeigt einen Schmp. 158—159° (unkorr.), eine optische Drehung $[\alpha]_D^{20}$: —42.3° (in Alkohol) und ein Absorptionsmaximum bei 240 m μ (Abbild.). Es wurde durch sein Acetat (Schmp. 118—119°) und durch das oben bereits erwähnte Oxim dieses Acetates (Zers.-Pkt. 213—215°) gekennzeichnet.

Die von Frl. D. von Dresler und Frl. U. Meinerts durchgeführten physiologischen Auswertungen des Δ^1 -Androstenolons lieferten Resultate, wie sie nach den am Δ^1 -Androstendion gesammelten Erfahrungen erwartet wurden. Auch das Δ^1 -Androstenolon erwies sich als hoch wirksame östrogene Verbindung: Mit $6 \times 250 \gamma$ tritt an der infantilen Ratte eine frühzeitige Vaginalöffnung ein, der bei Erhöhung der Dosis auf $6 \times 500 \gamma$ ein ausgesprochenes Vollbrunststadium folgt. Im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus löst das Δ^1 -Androstenolon mit 4×100 —125 γ eine Vollbrunst an 80—100% der Versuchstiere aus. Demgegenüber ist mit $2 \times 2 \text{ mg}$ nach subcutaner Injektion keine Wirkung auf das Wachstum des Kapaunenkamms auszulösen, und insgesamt $8 \times 500 \gamma$ haben keinerlei Entwicklung an der Vesikulardrüse infantiler Ratten bewirkt.

Um zu entscheiden, ob die Δ^1 -ungesättigten Derivate der Androstan-Reihe überhaupt keine Wirkung auf die Ausbildung männlicher Sexualcharaktere besitzen, haben wir anschließend ihre Auswertung noch im Fußgänger-Test durchgeführt, der eine direkte Aufpinselung ölgiger Lösungen der zu prüfenden Substanz auf den Hahnenkamm bevorzugt und der Größenordnung nach etwa 100-mal empfindlicher ist als der mit subcutaner Injektion arbeitende Hahnenkammtest. Bei der Verwendung dieser Methodik läßt sich erkennen, daß Δ^1 -Androstendion (V) und Δ^1 -Androstenolon (VI) noch eine sehr geringe männliche Prägungseigenschaft besitzen: Beide Stoffe bewirken im Fußgänger-Test nach Verabfolgung von $5 \times 100 \gamma$ ein Flächenwachstum des Kapaunenkamms um etwa 25—30%.

Aus den vorstehend wiedergegebenen Versuchen geht wiederum hervor, daß die in vielen Derivaten des Androstans vorhandene bisexuelle Prägungspotenz durch geringe Variation in der Struktur der Verbindungen stark nach der „männlichen“ oder „weiblichen“ Seite verschoben werden kann³⁾. Die Feststellung, daß lediglich durch die Verlagerung einer Doppelbindung um 3 Kohlenstoffatome innerhalb desselben Ringes aus den höchst



Absorptionsspektren.
(0.02-proz. Lösung in Chloroform.)
—— Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)
----- Stoff vom Schmp. 208°.

³⁾ vergl. die zusammenfassende Darstellung: A. Butenandt, Bull. Soc. Chim. biol. 19, 1477 [1937].

wirksamen männlichen Prägangsstoffen Verbindungen mit ausgeprägt östrogenen Eigenschaften entstehen, gehört zu den überraschendsten und interessantesten Ergebnissen unserer Spezifitätsuntersuchungen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Schering A.-G., Berlin, haben wir für die Unterstützung unserer Arbeit zu danken.

Beschreibung der Versuche.

2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat.

493 mg Androstanol-(17)-on-(3)-acetat (Schmp. 156°) wurden in 50 ccm Eisessig mit 3 Tropfen Bromwasserstoff-Eisessig und 5.10 ccm einer Brom-Eisessiglösung versetzt. Die Reaktionslösung entfärbte sich bei 20° sofort. Das Produkt wurde mit Wasser gefällt und aus Methanol umgelöst. Es verblieben 282 mg 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat in Nadeln vom Schmp. 177—178° (Ausb. 46% d. Th.).

4.901 mg Sbst.: 2.250 mg AgBr.

$C_{21}H_{31}O_3Br$. Ber. Br 19.44. Gef. Br 19.54.

2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3) (III) aus 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat.

31.0 mg 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat (Schmp. 178°) blieben in 20 ccm 3-proz. methylalkohol. Salzsäure 24 Stdn. bei Zimmertemperatur zur Verseifung stehen. Die Lösung wurde dann mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Der krystalline Ätherrückstand wurde aus verd. Aceton und verd. Alkohol umgelöst. Es resultierten 19 mg 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3) vom Schmp. 181° (unt. Zers.). Mischschmelzpunkt mit 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3), das durch direkte Bromierung von Androstan-ol-(17)-on-(3) in Eisessig dargestellt worden war, ergab keine Depression (Ausb. 68% d. Th.).

Abspaltung

von Bromwasserstoff aus 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3).

400 mg 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3) wurden in 14 ccm 21-proz. Kaliumacetat-Eisessig-Lösung 5 Stdn. im Bombenrohr auf 200° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser gefällt und in Äther aufgenommen. Die neutralen Anteile wurden bei 0.001 mm destilliert. Es wurden zwei ölige Fraktionen erhalten: 1. Fraktion 130—140°, 2. Fraktion: 140—150°.

Die 1. Fraktion wurde mit Hydroxylaminacetat in Alkohol 3 Stdn. zum Sieden erhitzt. Beim Anspritzen der Lösung mit Wasser entstand ein mit Krystallen durchsetztes Öl, das mit wenig Äther gewaschen wurde. Die zurückbleibenden Krystalle wurden aus verd. Alkohol umgelöst: 8 mg Oxim des Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)-acetats vom Schmp. 213—215° (unt. Zers.).

3.390 mg Sbst.: 9.030 mg CO_2 , 2.730 mg H_2O , 0.006 mg Rest. — 2.510 mg Sbst.: 0.092 ccm N_2 (24.5°/757 mm).

$C_{21}H_{31}O_3N$. Ber. C 72.99, H 9.05, N 4.06. Gef. C 72.78, H 9.03, N 4.19.

Die 2. Fraktion wurde aus Aceton-Petroläther krystallin erhalten und aus verd. Aceton umgelöst: 10 mg eines Stoffes vom Schmp. 208° in feinen Nadeln. Absorptionsspektrum s. Abbild.

2.512 mg Sbst.: 7.075 mg CO_2 , 1.950 mg H_2O .

$C_{21}H_{30}O_3$. Ber. C 76.31, H 9.09.

$C_{21}H_{28}O_3$. Ber. C 76.78, H 8.60. Gef. C 76.81, H 8.69.

Abspaltung von Bromwasserstoff aus 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat.

680 mg 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3)-acetat (Schmp. 177° bis 178°) wurden in 22 ccm 21-proz. Kaliumacetat-Eisessig-Lösung 5 Stdn. im Bombenrohr bei einer Badtemperatur von 200° erhitzt. Die gelbe Reaktionslösung wurde mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Die Neutralbestandteile wurden aus Aceton-Petroläther oder aus wenig Alkohol z. Tl. krystallisiert erhalten. In dem Krystallinat lag ein Stoffgemisch vor, das keine Absorption im Ultraviolett zeigte und nicht weiter untersucht wurde. Die Mutterlaugen wurden im Hochvakuum destilliert. Bei 160° ging ein gelbes Öl über, das mit Hydroxylaminacetat durch 3-stdg. Kochen in Alkohol umgesetzt wurde. Aus der Reaktionslösung krystallisierten 6 mg Oxim des Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)-acetats vom Schmp. 213—215° (unt. Zers.) (Mischschmelzpunkt!).

Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3) durch biochemische Hydrierung von Δ^1 -Androsten-dion-(3.17).

Zu einer Lösung von 50 g Fructose in 500 ccm Wasser, die mit 25 g Bäckerhefe vermischt waren, wurden 132 mg Δ^1 -Androsten-dion-(3.17) in 25 ccm Alkohol unter ständigem Rühren getropft. Nachdem die Lösung 3 Tage lang gegoren hatte, wurde der Ansatz mehrfach ausgeäthert. Die Ätherauszüge wurden vereinigt, auf etwa 50 ccm eingengt und mit 5-proz. Sodalösung gewaschen. Dann wurde die Ätherlösung mit Wasser neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der krystalline Rückstand wurde aus Aceton-Petroläther, Hexan und verd. Alkohol umgelöst. Es resultierten 110 mg Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3) vom Schmp. 158—159° (Ausb. 83% d. Th.).

$[\alpha]_D^{20}$: —42.3° (in Alkohol). Absorptionsmaximum bei 240 μ (Abbild.).

3.223, 2.154 mg Sbst.: 9.295, 6.210 mg CO₂, 2.870, 1.910 mg H₂O.

C₁₉H₂₈O₂. Ber. C 79.11, H 9.79. Gef. C 78.66, 78.64, H 9.96, 9.92.

Acetat: 15 mg Δ^1 -Androstenolon wurden in 2 ccm Pyridin + 1/2 ccm Essigsäureanhydrid 24 Stdn. bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach der Aufarbeitung wurden durch Umlösen aus verd. Aceton und verd. Alkohol 9 mg Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)-acetat vom Schmp. 118—119° erhalten.

3.031 mg Sbst.: 8.490 mg CO₂, 2.440 mg H₂O.

C₂₁H₃₀O₃. Ber. C 76.31, H 9.16. Gef. C 76.39, H 9.01.

Oxim des Acetats: 6 mg Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)-acetat wurden mit Hydroxylaminacetat (32 mg Hydroxylaminchlorhydrat + 52 mg Natriumacetat) 3 Stdn. in Alkohol zum Sieden erhitzt. Die Lösung wurde dann mit Wasser verdünnt und das krystallisierte Oxim aus verd. Alkohol umgelöst. Schmp. 213—215° (unt. Zers.). Dieses Oxim des Δ^1 -Androsten-ol-(17)-on-(3)-acetats ist identisch mit dem Oxim vom Schmp. 213—215° (unt. Zers.), das bei der Umsetzung von 2-Brom-androstan-ol-(17)-on-(3) bzw. seines Acetats mit Kaliumacetat-Eisessig-Lösung erhalten wurde (Mischschmelzpunkt!).