

stehen gelassen. Nach Zusatz von etwas Eisessig und Kaliumjodidlösung wurde der Überschuss an Perbenzoesäure mit Thiosulfat zurücktitriert, wobei sich ein Verbrauch von genau 1 Mol.-Äquiv. ergab. Das Gemisch wurde sodann mit Äther ausgeschüttelt, die Äther-Chloroformlösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde aus Aceton-Äther (1:1) krystallisiert, wobei 20 mg feiner Nadeln erhalten wurden, die den Smp. 192—196° zeigten. Diese Krystalle wurden zur weiteren Reinigung über 1 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Äther (9:1 und 4:1) erhaltenen Eluate krystallisierten aus Aceton-Äther in farblosen Nadeln vom Smp. 198—200°. Sie zeigten eine spez. Drehung von: $[\alpha]_D^{18} = +71,4^0 \pm 3^0$ ($c = 0,742$ in Aceton).

7,516 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,53^0 \pm 0,02^0$

Dieser Wert stimmt weitgehend mit demjenigen der aus (X) erhaltenen Nadeln überein.

Die 150 mg Mutterlaugen der oben genannten Krystalle wurden über 4,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt und gaben nochmals 19 mg der farblosen Nadeln vom Smp. 200—203°. Die reichlichen Mengen tiefer schmelzenden Materials enthielten möglicherweise das stereoisomere Oxyd, wurden aber nicht weiter untersucht. Die Krystalle wurden zur Analyse 4 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und eingeschmolzen versandt. Auch unter diesen Umständen gab dieser Stoff wiederum denselben, um etwa 0,6% zu tief befundenen C-Wert.

3,052 mg Subst. gaben 8,472 mg CO₂ und 2,455 mg H₂O (E.T.H.)

C₂₁H₃₀O₃ (330,45) Ber. C 76,31 H 9,15%

Gef. „ 75,74 „ 9,00%

Die Mikroanalysen wurden teils von Hrn. Dr. Ing. A. Schoeller, Berlin, teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung H. Gubser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

106. Hydrierung des Androsten-(5)-ol-(3β)-on-(17)-acetats. Eindeutiger Beweis für die Gleichheit der räumlichen Lage der Hydroxylgruppe in Cholesterin und Koprosterin

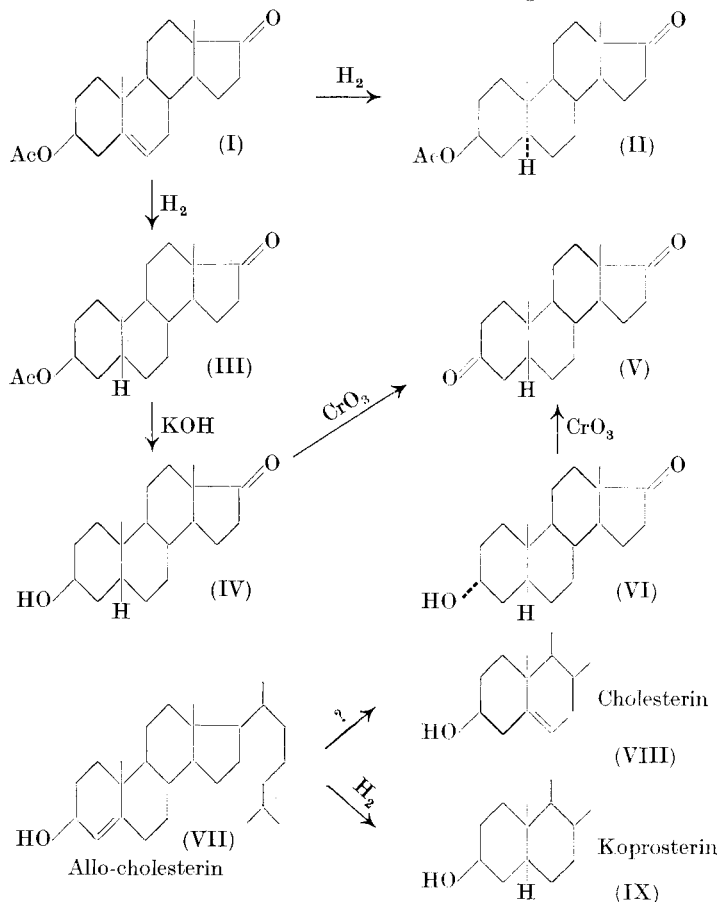
von T. Reichstein und A. Lardon.

(2. VII. 41.)

Für synthetische Versuche wurde Androstanol-(3β)-on-(17)-acetat (II)¹⁾ benötigt, das wir durch Hydrierung von Androsten-(5)-

¹⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Eichenberger, Helv. 17, 1395 (1934).

ol-(3 β)-on-(17)-acetat (I)¹⁾ mit Platinoxid in Eisessig bereiteten. Es fiel dabei auf, dass die Ausbeute an (II) relativ schlecht war, da reichliche Mengen unscharf schmelzender Nebenprodukte erhalten wurden. Diese konnten nicht von ungenügender Hydrierung der Doppelbindung oder partieller Hydrierung der Ketogruppe herrühren, denn es wurde wie früher²⁾ wieder so verfahren, dass das reine Acetat (I) zunächst überhydriert und das rohe Hydrierungsprodukt, das teilweise in 17-Stellung bereits zur Hydroxylstufe reduziert war, anschliessend mit überschüssiger Chromsäure zurückoxydiert wurde. Die genauere Untersuchung des Reaktionsprodukts ergab, dass zwei Ketone entstehen. Ausser dem als Hauptprodukt gebildeten Acetat (II)



vom Smp. 103° wurde in kleinerer Menge ein isomeres Acetat vom Smp. 158° erhalten. Da die zwei Ketone sich nur mühsam

¹⁾ A. Butenandt, H. Dannenbaum, Z. physiol. Ch. **229**, 167 (1934); L. Ruzicka, A. Wettstein, Helv. **18**, 986 (1935).

²⁾ M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 546, insbesondere 556, Anm. 3 (1938).

trennen lassen, ist es auf dem von uns beschriebenen, rein präparativen Wege nicht möglich, die wahren Ausbeuten anzugeben. Ferner lässt sich auch nicht sicher sagen, ob im Hydrierungsgemisch nicht noch weitere Produkte enthalten sind, obwohl keine Anzeichen dafür sprechen. Der bei 158° schmelzende Stoff erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung als identisch mit dem Acetat (III) des nach *Ruzicka* und Mitarbeitern¹⁾ aus Koprosterin bereiteten Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV). Zur weiteren Sicherstellung dieses Tatbestandes wurde das Acetat (III) noch zum freien Oxyketon (IV) verseift und dieses weiter mit Chromtrioxyd zum Diketon (V) oxydiert. Auch das Oxyketon und das Diketon waren nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung identisch mit authentischem Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV)¹⁾ bzw. Ätio-cholan-dion-(3,17) (V). Letzteres wurde durch Oxydation von Ätio-cholanol-(3 α)-on-(17) (VI)²⁾³⁾ hergestellt, das aus Epi-koprosterin bereitete worden war. In der Tabelle sind die Schmelzpunkte und Drehungen der drei Stoffe verschiedener Provenienz nochmals zusammengestellt.

	Aus (I) durch Hydrierung	Aus Koprosterin
Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV)	Smp. 152—154° [α] _D ²⁰ = +88,8° ± 2° (absoluter Alkohol)	Smp. 152—154° [α] _D ¹⁷ = +87,8° ± 2° (absoluter Alkohol)
Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17)-acetat (III)	Smp. 157—159° [α] _D ¹⁷ = +81,9° ± 2° (Aceton)	Smp. 157—159° [α] _D ¹⁶ = +82,5° ± 2° (Aceton)
Ätio-cholan-dion-(3,17) (V)	Smp. 132—134° [α] _D ¹⁷ = +110,5° ± 3° (absoluter Alkohol)	Smp. 132—134° ⁴⁾ [α] _D ¹⁷ = +110° ± 2° (absoluter Alkohol) ⁴⁾

Es folgt somit, dass die Hydrierung von (I) sterisch nicht einheitlich verläuft, sondern die zwei theoretisch möglichen Isomeren (II) und (III) liefert. Dies ist aus zwei Gründen bemerkenswert.

1) Es ist bisher kein sicherer Fall bekannt, wo aus Steroiden mit einer 5-ständigen Doppelbindung durch Hydrierung Koprostan-Derivate entstehen.

2) Die beschriebene Reaktionsfolge stellt einen eindeutigen Beweis dafür dar, dass die Hydroxylgruppe im Cholesterin und Koprosterin dieselbe räumliche Lage besitzt.

¹⁾ *L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Fischenberger, Helv. 17, 1395 (1934).*

²⁾ *L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Fischenberger, Helv. 17, 1395 (1934).*

³⁾ Wir danken Herrn Prof. *L. Ruzicka* für die Überlassung einer Probe dieses Ketons.

⁴⁾ Aus Epi-koprosterin bereitet.

Die Gleichheit der räumlichen Lage der Hydroxylgruppe in Cholesterin und Koprosterin wird zwar schon längere Zeit als gegeben angenommen; diese Annahme stützt sich aber zur Hauptsache auf teilweise überholte Ergebnisse von *Windaus*¹⁾ an einem Stoff, den er als Allo-cholesterin (VII) ansah. Er konnte daraus einerseits durch Hydrierung Koprosterin (IX) gewinnen und glaubte andererseits, durch Umlagerung daraus Cholesterin (VIII) erhalten zu haben. Inzwischen ist aber von *Schoenheimer* und *Evans*²⁾ das wirkliche Allo-cholesterin (VII) bereitet worden. Diese Forscher zeigten, dass das Produkt von *Windaus* ein Gemisch von Allo-cholesterin (VII) und Cholesterin (VIII) gewesen ist und dass reines Allo-cholesterin (VII) bei der Hydrierung Koprosterin (IX) liefert, sich hingegen unter den von *Windaus* angewandten Bedingungen nicht in Cholesterin (VIII) umlagern lässt, wodurch die Beweisführung hinfällig geworden ist. Als indirekte Stütze für die oben erwähnte Annahme kann dagegen der Befund von *Schoenheimer* und *Evans*³⁾ angesehen werden, die durch Hydrierung von Epi-allo-cholesterin ein Gemisch von Epi-cholestanol und Epi-koprostanol erhielten. Die Beweiskraft dieses Resultates wird jedoch durch die Tatsache beeinträchtigt, dass Epi-allo-cholesterin und Allo-cholesterin (VII) substituierte Allyl-alkohole darstellen, also einer Körperklasse angehören, die bekanntlich sehr zu anomalen Reaktionen neigt und daher, unserer Meinung nach, für Konfigurationsbestimmungen an der Hydroxylgruppe nicht sehr geeignet ist⁴⁾.

Experimenteller Teil.

Hydrierung von Androsten-(5)-ol-(3 β)-on-(17)-acetat (I).

2 g reinstes, chromatographisch gereinigtes Androsten-(5)-ol-(3 β)-on-(17)-acetat (*t*-Dehydro-androsteron-acetat) (I) vom Smp. 172—173° wurden in der eben nötigen Menge reinstem Eisessig gelöst, mit 250 mg Platinoxid versetzt und in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 2 Stunden waren 225 cm³ Gas aufgenommen (davon 177 cm³ in der ersten Stunde), worauf die Hydrierung abgebrochen wurde. Das Platin wurde abfiltriert und mit etwas Eisessig nachgewaschen, das Filtrat mit 15 cm³ einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 0,3 g CrO₃) versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur stark eingeeengt, der Rückstand mit Wasser versetzt und

¹⁾ A. *Windaus*, A. **453**, 101 (1927); vgl. Z. physiol. Ch. **213**, 147 (1932).

²⁾ R. *Schoenheimer*, E. A. *Evans*, Jr., J. Biol. Ch. **114**, 567 (1936); vgl. auch W. A. *Yarnell*, E. S. *Wallis*, J. Organ. Chem. **4**, 270 (1939); C. **1939**, II, 3814.

³⁾ R. *Schoenheimer*, E. A. *Evans*, Jr., J. Biol. Ch. **114**, 567 (1936); vgl. auch W. A. *Yarnell*, E. S. *Wallis*, J. Organ. Chem. **4**, 270 (1939); C. **1939**, II, 3814.

⁴⁾ Über die wirkliche räumliche Lage der Hydroxylgruppe vgl. L. *Ruzicka*, M. *Furter*, M. W. *Goldberg*, Helv. **21**, 498 (1938), ferner K. *Miescher*, W. H. *Fischer*, Chemistry and Industry **53**, 113 (1939) u. a.

mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde stark eingengt und mit Pentan versetzt. Die zuerst abgeschiedenen Krystalle (Hauptmenge) schmolzen unscharf bei 98—103°, weitere aus den Mutterlaugen erhaltene Krystallisate schmolzen noch über ein viel längeres Intervall meistens von 90—150°. Die Hauptfraktion lieferte nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan 710 mg reines Androstanol-(3 β)-on-(17)-acetat (II) vom Smp. 103—104°. Da ein Versuch zur chromatographischen Trennung nur eine schlechte Aufteilung ergab, wurden die bei 90 bis 150° schmelzenden Anteile durch fraktionierte, rasche Krystallisation aus Äther-Pentan weiter getrennt. Auf diese Weise wurden als zweites reines Produkt 80 mg farblose Rhomboeder vom Smp. 157 bis 159° erhalten. Die Mischprobe mit authentischem Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17)-acetat (III) (vgl. weiter unten), das ebenfalls bei 157 bis 159° schmolz, gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +81,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,319$ in Aceton).

13,363 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,08^\circ \pm 0,02^\circ$

Semicarbazon. 100 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 150 mg krystallisiertes Natriumacetat wurden bis zur Verflüssigung verrieben, dann mit 1 cm³ Methanol versetzt und nach kurzem Stehen filtriert. 8 mg des Acetates vom Smp. 157—159° wurden in wenig Methanol gelöst und mit 0,1 cm³ der obigen Semicarbazid-acetatlösung versetzt. Nach 16-stündigem Stehen wurde im Vakuum etwas eingengt, abgenutscht, mit wenig Wasser und Äther gewaschen, aus absolutem Alkohol umkrystallisiert und im Hochvakuum getrocknet. Das Produkt schmolz bei 248—250°. Die Mischprobe mit authentischem Vergleichsmaterial, das ganz analog bereitet wurde, gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV) aus (I).

43 mg des obigen, durch Hydrierung von (I) erhaltenen Acetats (III) vom Smp. 157—159° wurden mit der Lösung von 25 mg Kaliumhydroxyd in 3 cm³ Methanol 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde die wässrige Lösung von 100 mg Kaliumhydrogencarbonat zugefügt, das Methanol im Vakuum entfernt und die wässrige Suspension mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 37 mg Rohprodukt, das durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan 33 mg farbloser Prismen vom Smp. 152—154° lieferte. Die Mischprobe mit authentischem Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV), das nach Ruzicka und Mitarbeitern¹⁾ aus reinstem Koprosterin gewonnen worden war und ebenfalls bei 152—154° schmolz, gab keine

¹⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Fichtenberger, *Helv.* **17**, 1395 (1934).

Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +88,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,997$ in absolutem Alkohol).

9,967 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = +0,88^\circ \pm 0,02^\circ$

Die spez. Drehung des aus Koprosterin bereiteten Produkts betrug: $[\alpha]_D^{17} = +87,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,912$ in absolutem Alkohol).

19,368 mg Subst. zu $1,0125 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +1,68^\circ \pm 0,03^\circ$

Die Oxyketone beider Provenienz konnten auch in einer niedriger schmelzenden Form erhalten werden, die möglicherweise ein Hydrat darstellt. Diese Form sinterte stark bei 106° und schmolz dann völlig bei $133\text{--}135^\circ$. Nach dem Erkalten und Wiedererstarren zeigte sie jedoch erneut den Smp. von 152° . Bei der Mischprobe mit dem bei 153° schmelzenden Ätio-cholanol-(3 α)-on-(17)¹⁾ aus Epi-koprosterin gaben beide Proben des Oxyketons starke Schmelzpunktserniedrigung.

Ätio-cholan-dion-(3,17) (V) aus (I).

25 mg durch Hydrierung von (I) und Verseifung erhaltenes Ätio-cholanol-(3 β)-on-(17) (IV) vom Smp. $152\text{--}154^\circ$ wurden in $0,5 \text{ cm}^3$ reinstem Eisessig gelöst, mit $0,45 \text{ cm}^3$ einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 9 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft und der Rückstand im Hochvakuum bei 120° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat krystallisierte aus Äther-Pentan in farblosen Körnern vom Smp. $132\text{--}134^\circ$. Mit dem sehr ähnlich schmelzenden Androsten-dion-(3,17) wurde bei der Mischprobe eine starke Depression erhalten. Hingegen gab das Diketon bei der Mischprobe mit authentischem Ätio-cholan-dion-(3,17) (V), das ebenfalls bei $132\text{--}134^\circ$ schmolz, keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Vergleichsprobe wurde durch analoge Oxydation von Ätio-cholanol-(3 α)-on-(17)²⁾ gewonnen, das aus Epi-koprosterin bereitet worden war. Die spez. Drehung des aus (I) gewonnenen Diketons betrug: $[\alpha]_D^{17} = +110,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,769$ in absolutem Alkohol).

7,686 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +0,85^\circ \pm 0,02^\circ$

Die spez. Drehung des aus Epi-koprosterin hergestellten Vergleichsmaterials betrug: $[\alpha]_D^{17} = +110^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,240$ in absolutem Alkohol).

12,560 mg Subst. zu $1,0125 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +1,36^\circ \pm 0,02^\circ$

¹⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Eichenberger, *Helv.* **17**, 1395 (1934).

²⁾ Wir danken Herrn Prof. Ruzicka für die Überlassung einer kleinen Menge dieses Oxy-ketons.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

3,711 mg Subst. gaben 10,77 mg CO₂ und 3,278 mg H₂O

C ₁₉ H ₂₈ O ₂ (288,41)	Ber. C 79,11	H 9,78%
	Gef. „ 79,19	„ 9,88%

Ätio-cholanol-(3β)-on-(17)-acetat (III) aus Koprosterin.

Die Oxydation von 8,5 g Koprosterin-acetat nach *Ruzicka* und Mitarbeitern¹⁾ gab 100 mg aus Alkohol umkrystallisiertes Semi-carbazon des Ätio-cholanol-(3β)-on-(17)-acetats, das bei 240—244° schmolz. Daraus wurden 65 mg rohes und schliesslich 35 mg ganz reines sublimiertes und umkrystallisiertes Ätio-cholanol-(3β)-on-(17) (IV) vom Smp. 152—154° erhalten. Die spez. Drehung ist bereits weiter oben wiedergegeben.

23 mg dieses Oxy-ketons wurden in 0,5 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,3 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschliessend noch ½ Stunde auf 60° erwärmt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde zunächst im Molekularkolben bei 0,01 mm Druck und 125° Badtemperatur sublimiert, dann aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es wurden 15 mg farblose Rhomboeder erhalten, die bei 157—159° schmolzen; sie wurden im Hochvakuum bei 40° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = + 82,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,485 in Aceton).

15,04 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{16} = + 1,225^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,668 mg Subst. gaben 10,203 mg CO₂ und 3,215 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₂ O ₃ (332,47)	Ber. C 75,86	H 9,70%
	Gef. „ 75,90	„ 9,80%

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *H. Gubser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *L. Ruzicka, M. W. Goldberg, J. Meyer, H. Brüngger, E. Eichenberger*, *Helv.* **17**, 1395 (1934).