

24. Über Steroide.

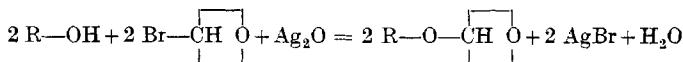
(35. Mitteilung¹)).

Zur Darstellung von Saccharidderivaten der Steroide

von Ch. Meystre und K. Miescher.

(28. XII. 43.)

In einer Reihe von Arbeiten unseres Laboratoriums wurde über die Herstellung von Saccharidderivaten verschiedener Steroide, insbesondere auch des Desoxy-corticosterons, berichtet. Es diente dazu das klassische Verfahren der Umsetzung der Alkohole mit Acylhalogenen in Gegenwart von Silberoxyd als Halogenwasserstoff-acceptor. Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema²):



Die bisher erzielten Reinausbeuten überstiegen in keinem Falle 50 %, sondern schwankten meist zwischen 20 und 40 %³). Ein wesentlicher Grund hiefür beruht offenbar darin, dass das Reaktionswasser einen Teil der Acylhalogenose verseift und das Verseifungsprodukt sich seinerseits mit Acylhalogenose zu höheren Zuckern umsetzen kann, was die Isolierung der Endstoffe oft wesentlich erschwert⁴). Schon mehrfach wurde daher vorgeschlagen, die Reaktion in Gegenwart wasserbindender Mittel wie z. B. Calciumchlorid⁵), Calciumsulfat⁶) oder Calciumhydrid⁷) auszuführen. Diese Mittel bewirken zwar in einzelnen Fällen, insbesondere beim Aufbau von einfachen Zuckern, Ausbeuteverbesserungen. Zur Gewinnung von Saccharid-derivaten der Steroide eignen sie sich aber wenig.

Durch einen einfachen Kunstgriff ist es uns gelungen, einen erheblichen Fortschritt zu erzielen. Er besteht darin, dass zum mindesten ein Teil des Reaktionswassers noch während der Umsetzung

¹) 34. Mitteilung, siehe K. Miescher und Ch. Meystre, *Helv.* **26**, 224 (1943). Die vorliegende Arbeit bildet zugleich die 3. Mitteilung über Saccharide des Desoxy-corticosterons.

²) Bei Verwendung von Silbercarbonat entsteht ausserdem Kohlendioxyd.

³) Siehe z. B. K. Miescher und W. H. Fischer, *Helv.* **21**, 336 (1938); K. Miescher, Ch. Meystre und J. Heer, *Helv.* **24**, 988 (1941).

⁴) Siehe z. B. E. Fischer und K. Delbrück, *B.* **42**, 2776 (1909).

⁵) B. Helferich, E. Bohn und S. Winkler, *B.* **63**, 989 (1930).

⁶) D. D. Reynold und W. L. Evans, *Am. Soc.* **60**, 2559 (1938); B. Helferich und J. Goerdeler, *B.* **73**, 532 (1940).

⁷) H. Lettré und A. Hagedorn, *Z. physiol. Ch.* **242**, 210 (1936).

zusammen mit dem Lösungsmittel durch azeotrope Destillation laufend entfernt wird¹⁾). Zweckmässig wird die Acylhalogenose allmäthlich, nach Massgabe des Reaktionsverlaufs, eingetragen. Als Lösungsmittel bewährte sich insbesondere Benzol, doch lassen sich auch Toluol, Chloroform u. dgl. verwenden.

Dampft man die filtrierte Reaktionslösung ein und nimmt den Rückstand in Äther auf, so krystallisieren im allgemeinen die Acetate der Steroidsaccharide allmäthlich aus. Aus den Mutterlaugen lassen sich nach Verseifung noch weitere Mengen, sei es in Form der freien Saccharide oder, nach Reacetylierung, in Form der Acetate gewinnen.

Auf diese Weise bereiteten wir z. B. die β -Glucosid-tetraacetate bzw. die freien β -Glucoside des *t*-Androsterons (iso), Desoxy-corticosterons, Testosterons und Cholesterins. Die Gesamtausbeuten²⁾ an reinen acetylierten und freien Glucosiden betrugen je 85,8% (43%³⁾), 60,2% (25%⁴⁾), 43,2% (18,6%⁵⁾) und 43,3% (25%⁶⁾), wobei die eingeklammerten Zahlen den früher mitgeteilten Werten entsprechen. Neu wurde das β -Glucosid-tetra-acetat des erstmalig von *L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst*⁷⁾ synthetisch gewonnenen Aglucons, des $\Delta^{5,6;20,22}$ -3,21-Dioxy-nor-cholensäure-lactons, mit einer Ausbeute von 31,8% erhalten. Die Herstellung von Glucosiden aus Agluconen ist bereits früher in einem Patent der Firma *Boehringer* beschrieben⁸⁾. In der Mehrzahl der Fälle wurden nicht näher charakterisierte, offenbar noch unreine Produkte erhalten. Einzig aus Strophanthidin wird die Bildung eines krystallisierten, aber nicht analysierten Glucosid-tetra-acetats vom Smp. 128–131⁹⁾ angegeben, das in einer Ausbeute von 50 mg⁹⁾ oder etwa 6,8% der Theorie aus 0,4 g Aglucon entstand.

Zum Beweis dafür, dass unsere Methode zur Gewinnung von Derivaten höherer Saccharide der Steroide gleicherweise geeignet ist, beschreiben wir hier auch die Gewinnung von Maltosiden zweier Steroide. Infolge der geringeren Krystallisationsfreudigkeit der Maltoside bereitet ihre Darstellung auf den üblichen Wegen besondere Schwierigkeiten.

Mit guter Ausbeute (60,5%) gewannen wir das 17-(Maltosid-hepta-acetat) des Oestradiol-3-benzoats. Das Hepta-acetyl-maltosid

¹⁾ Pat. Anm. der *Ges. f. chem. Industrie* in Basel vom 28. Dezember 1943.

²⁾ Durch Varierung der Versuchsbedingungen lassen sich die hier angegebenen Ausbeuten noch erhöhen.

³⁾ *K. Miescher, Ch. Meystre und J. Heer, Helv.* **24**, 990 (1941).

⁴⁾ *K. Miescher, W. H. Fischer und Ch. Meystre, Helv.* **25**, 40 (1941).

⁵⁾ *E. Rabald und H. Dietrich, Z. physiol. Ch.* **259**, 251 (1939).

⁶⁾ *H. Lettré und A. Hagedorn, Z. physiol. Ch.* **242**, 212 (1936).

⁷⁾ *L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv.* **24**, 76 (1940).

⁸⁾ *Boehringer und Söhne, D. R. P. 676194 vom 19. Dezember 1935.*

⁹⁾ In der Patentschrift steht offenbar irrtümlich g statt mg.

des Desoxy-corticosterons haben wir kürzlich dargestellt¹⁾. Die Isolierung gelang jedoch nur unter Einschaltung einer Chromatographie und die Ausbeute erwies sich als sehr bescheiden. Jetzt wurden direkt 32,4 % acetyliertes und aus der Mutterlauge nach Verseifung noch 10,1 % freies Maltosid erhalten (Totalausbeute 42,5 %).

Von Interesse ist die erhöhte Wasserlöslichkeit des Desoxy-corticosteron-maltosids. Sie übertrifft bei Zimmertemperatur mit etwa 6% diejenige des Lactosids beinahe um das Doppelte und diejenige des Glucosids um das Fünffache. Wie wir früher gezeigt haben, können nach Zusatz von Glucose u. dgl. 1- bis 2-prozentige wässrige Lösungen des Glucosids hergestellt werden, die trotz Übersättigung lange Zeit haltbar bleiben. Ähnliches gilt in erhöhtem Masse für das Maltosid. In der Wärme zeigt es eine unbeschränkte Wasserlöslichkeit. 25-proz. Lösungen krystallisieren schon ohne Glucosezusatz bei Zimmertemperatur erst nach Stunden oder Tagen aus, während z. B. 10-proz. Lösungen über längere Zeiträume in verschlossenen Ampullen haltbar bleiben.

Nachdem inzwischen von *R. Meier*²⁾ gezeigt werden konnte, dass nebennierenlose Hunde aus schwerster Insuffizienz durch Injektion grösserer Mengen Desoxy-corticosteron-glucosid beinahe momentan restituiert werden können, was bisher mit Desoxy-corticosteron-acetat (Percorten) nicht in diesem Masse gelang, haben die Saccharidderivate der Steroide erheblich an Interesse gewonnen. In Anbetracht der Kostbarkeit des Ausgangsmaterials kommt der hier beschriebenen verbesserten Gewinnungsmethode besondere Bedeutung zu. Sie ist noch entwicklungsähig und erweist sich übrigens auch in anderen Fällen von Vorteil.

Experimenteller Teil³⁾.

1. Glucoside des *t*-Androsterons.

a) β , *d*-Glucosid-tetra-acetat.

Eine Lösung von 5 g *t*-Androsteron in 200 cm³ trockenem Benzol wurde mit 8 g Silbercarbonat versetzt und zum Sieden erhitzt. Während Benzol abdestillierte, liess man unter Röhren langsam eine Lösung von 18 g Acetobrom-*d*-glucose in 300 cm³ Benzol zutropfen. Die Silbersalze wurden abgenutscht und gründlich mit Wasser ausgewaschen, worauf man das klare Filtrat im Vakuum eindampfte. Aus dem in Äther gelösten Rückstand krystallisierte das β , *d*-Glucosid-tetra-acetat des *t*-Androsterons nach einigem Stehen aus. Aus Alkohol umkrystallisiert schmolz es bei 192°. Die Ausbeute betrug 5,59 g (= 51,4 % der Theorie).

b) Freies β , *d*-Glucosid.

Die Mutterlungen des Tetra-acetates wurden eingedampft. Den Rückstand löste man in 200 cm³ Methanol und versetzte die Lösung in der Kälte mit einem kleinen Über-

¹⁾ *K. Miescher und Ch. Meystre*, Helv. **26**, 224 (1943).

²⁾ *R. Meier*, Helv. Physiol. Pharmacol. Acta **1**, 63 (1943); eine ausführliche Arbeit befindet sich im Druck.

³⁾ Alle Schmelzpunkte wurden unter dem Mikroskop beobachtet und sind korrigiert.

schuss einer methylalkoholischen Natriummethylatlösung. Nach 3-stündigem Stehen bei 20° wurde die Lösung mit Essigsäure neutralisiert, mit Wasser versetzt und im Vakuum konzentriert. Man nutzte ab und wusch mit kaltem Wasser nach. Die Acetonlösung des getrockneten Rückstandes wurde mit Äther versetzt, worauf das freie *t*-Androsteron- β, d -Glucosid auskristallisierte. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther schmolz es bei 216—217°. Die Ausbeute an freiem Glucosid betrug 2,68 g oder 34,4% der Theorie.

2. β, d -Glucosid des Desoxy-corticosterons.

a) β, d -Glucosid-tetra-acetat.

10 g Desoxy-corticosteron wurden mit 13 g Silbercarbonat und 25 g Acetobrom-glucose in 500 cm³ Benzol umgesetzt. Aus der ätherischen Lösung des Filtratrückstandes krystallisierte das β, d -Glucosid-tetra-acetat des Desoxy-corticosterons in einer Menge von 8,8 g (= 44% der Theorie) nahezu rein (Smp. 172°) aus.

b) Freies β, d -Glucosid.

Die ätherischen Mutterlaugen des Tetra-acetates wurden mit Natriumhydrogen-carbonatlösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und vollständig eingedampft. Zwecks Verseifung löste man den Rückstand in 1 Liter trockenem Methanol, versetzte die Lösung bei tiefer Temperatur mit 10 cm³ einer 2-n. Bariummethylatlösung und liess 24 Stunden bei dieser Temperatur stehen. Das Bariumion wurde hierauf mit der berechneten Menge Schwefelsäure ausgefällt, das gebildete Bariumsulfat abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser und Essigester ausgeschüttelt, wobei das Ausgangsmaterial in den Essigester und das freie Glucosid in die wässrige Phase ging. Den wässrigen Anteil versetzte man mit der gleichen Menge Alkohol und schüttelte mehrmals mit Chloroform aus. Den Rückstand der Chloroform-lösungen krystallisierte man aus Aceton und etwas Methanol um. So wurden zusätzlich noch 2,41 g (= 16,2% der Theorie) an freiem β, d -Glucosid des Desoxy-corticosterons vom Smp. 192—195° erhalten, insgesamt also an Glucosiden 60,2% der Theorie.

3. β, d -Glucosid-tetra-acetat des Testosterons.

5 g Testosteron wurden in benzolischer Lösung mit 8 g Silbercarbonat und 18 g Acetobrom-*d*-glucose umgesetzt. Aus der ätherischen Lösung des Benzolrückstandes krystallisierte in der Kälte das β, d -Glucosid-tetra-acetat des Testosterons. Dieses Glucosid war dimorph und schmolz zuerst bei 125—128°, erstarre wieder in Form von langen Nadeln und schmolz endgültig bei 163°. Die Ausbeute betrug 3,94 g (= 36,6% der Theorie). Die Mutterlaugen wurden eingedampft und der Rückstand wie beim *t*-Androsteron angegeben, verseift. Nutschte man nach dem Eindampfen des Methanols die erhaltenen wässrige Suspension ab und krystallisierte den Rückstand aus Aceton-Wasser um, so gewann man 1,95 g Testosteron (= 39%) unverändert zurück. Die Mutterlaugen befreite man vom Aceton und extrahierte die erhaltene wässrige Suspension mit Chloroform. Den Chloroformrückstand reacetylierte man mit Acetanhydrid in Pyridin. Nach Entfernung des Pyridins wurde in Äther gelöst, worauf nach dem Einengen alsbald noch 0,72 g sehr reines β, d -Glucosid-tetra-acetat ausfielen. Die Gesamtausbeute erreichte somit 43,2% der Theorie.

4. β, d -Glucosid des Cholesterins.

5 g Cholesterin wurden mit 6 g Silbercarbonat und 13,3 g Acetobrom-*d*-glucose in 300 cm³ Benzol in üblicher Weise umgesetzt. Den Benzolrückstand löste man in 300 cm³ Alkohol und versetzte zur Verseifung bei 20° mit einer alkoholischen Lösung von Natrium-alkoholat bis zur deutlich alkalischen Reaktion. Das β, d -Glucosid des Cholesterins fiel fast spontan aus. Es wurde abgenutscht, mit Alkohol und Äther gründlich gewaschen

und mit 100 cm³ Wasser aufgekocht. Nach dem Abkühlen nutschte man wieder ab und wusch mit Wasser nach. Der Rückstand wurde nun in 50 cm³ Pyridin¹⁾ gelöst, die Lösung in der Hitze filtriert und mit Wasser versetzt. Das β ,*d*-Glucosid des Cholesterins kristallisierte aus und wurde nach Zugabe von etwas Äther abgenutscht und mit Alkohol und Äther gewaschen. Die Ausbeute betrug 3,07 g (= 43,3% der Theorie).

5. β ,*d*-Glucosid-tetra-acetat des $\Delta^{5,6;20,22}\text{-}3,21\text{-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons}$.

Zu 0,5 g $\Delta^{5,6;20,22}\text{-}3,21\text{-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton$ und 0,8 g Silbercarbonat in siedendem Benzol wurde in üblicher Weise eine benzolische Lösung von 1,4 g Acetobromglucose zugetropft. Der Benzolrückstand wurde in Äther aufgenommen; beim Stehen kristallisierten 40 mg Ausgangsmaterial wieder aus. Nach Entfernung des Äthers erhielten wir auf Zusatz von Isopropyläther und wenig Aceton eine gallertartige Fällung. Sie wurde 3 mal aus den gleichen Lösungsmitteln umkristallisiert. Derart entstanden schön ausgebildete Prismen des β ,*d*-Glucosid-tetra-acetates des $\Delta^{5,6;20,22}\text{-}3,21\text{-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons}$. Die Ausbeute betrug 307 mg (= 31,8% der Theorie).

4,410 mg Subst. gaben 10,47 mg CO₂ und 2,96 mg H₂O.

C₂₇H₅₀O₁₂ Ber. C 64,70 H 7,33%
Gef. , , 64,77 , 7,51%

$[\alpha]_D^{19,25} = -34 \pm 4^\circ$ (c = 1,005 in Methanol)

6. 17-(β -Maltosid-hepta-acetat) des Oestradiol-3-mono-benzoats.

5 g Oestradiol-3-mono-benzat und 6 g Silbercarbonat in siedendem Benzol wurden mit 19 g Acetobrommaltose umgesetzt. Den Benzolrückstand nahm man in heissem Alkohol auf. Bald kristallisierte das 17-(β -Maltosid-hepta-acetat) des Oestradiol-3-mono-benzoats aus. Es wurde nochmals aus Alkohol umkristallisiert, worin es in der Kälte wenig löslich ist. Die Ausbeute betrug 8 g (= 0,5% der Theorie). Es schmolz bei 227 bis 229°.

3,552 mg Subst. gaben 8,11 mg CO₂ und 2,08 mg H₂O

C₅₁H₆₂O₁₉ Ber. C 62,52 H 6,38%
Gef. , , 62,30 , 6,55%

$[\alpha]_D^{19,5} = +56 \pm 4^\circ$ (c = 1,000 in Methanol)

7. Maltoside des Desoxy-corticosterons.

a) β -Maltosid-hepta-acetat.

10 g Desoxy-corticosteron wurden in trockenem Benzol mit 13 g Silbercarbonat und 53 g Acetobrommaltose in 400 cm³ Benzol umgesetzt. Aus der klaren ätherischen Lösung des Benzolrückstandes schied sich langsam das Desoxy-corticosteron- β -maltosid-hepta-acetat ab. Es bildete, nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Äther, schöne Kristalle vom Smp. 183—185°. Die Ausbeute betrug 9,9 g (= 32,4% der Theorie).

b) Freies β -Maltosid.

Die Mutterlaugen des Maltosid-acetats wurden in Äther aufgenommen, wie üblich gewaschen, getrocknet und eingedampft. Hierauf versetzte man, ähnlich wie beim Tetra-acetat des Desoxy-corticosteron-glucosids beschrieben, in methanolischer Lösung mit Bariummethylat. Löst man nach dem Eindampfen der Chloroformlösung den zähen Rückstand in Alkohol, so kristallisierte nach längerem Stehen das freie β -Maltosid des Desoxy-corticosterons aus. Nach 2-maligem Umkristallisieren aus Alkohol erhielten wir

¹⁾ Nach A. H. Salway, Soc. 103, 1026 (1913).

2 g (= 10,1% der Theorie) vom Smp. 232—235°. Die Gesamtausbeute betrug somit 42,5% der Theorie.

3,133 mg Subst. gaben 6,96 mg CO₂ und 2,18 mg H₂O.

C₃₃H₅₀O₁₃ Ber. C 60,53 H 7,69%

Gef. „ 60,61 „ 7,78%

$[\alpha]_D^{19,5} = +124 \pm 4^\circ$ (c = 0,995 in Methanol)

Die Analysen wurden unter der Leitung von Herrn Dr. Gysel in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt.

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

Bei der Redaktion eingelaufene Bücher:

(Die Redaktion verpflichtet sich nicht zur Besprechung der eingesandten Werke.)

Livres reçus par la Rédaction:

(La rédaction ne s'engage pas à publier des analyses des ouvrages qui lui sont soumis.)

Nouvelle méthode d'analyse qualitative des cations, par *Gaston Charlot et Denise Bézier*, 28 pages. *Presses documentaires*, Paris, 1943, br. 20 frs. frç.
