

7. Untersuchungen über Organextrakte.

(5. Mitteilung¹⁾).

Über zwei moschusartig riechende Steroide aus Schweinetestes-Extrakten

von V. Prelog und L. Ruzicka.

(16. XII. 43.)

Bei der Fortsetzung unserer Untersuchungen der Schweinetestes-Extrakte²⁾ fanden wir, dass durch Aufteilung der in der früheren Arbeit mit III bezeichneten Fraktion³⁾ gewisse Anteile erhalten werden, die sich durch einen moschusähnlichen Geruch auszeichnen. Eine sorgfältige chromatographische Analyse dieser Fraktion führte dann zu zwei krystallinen Substanzen, von uns als Verbindung F bzw. G bezeichnet, welche sich als Träger des eigenartigen Geruches erwiesen.

Die bei 143,5° schmelzende Verbindung F gab mit der bei 123° schmelzenden Verbindung G eine starke Schmelzpunktserniedrigung; im übrigen waren sich die beiden Körper sehr ähnlich. Die Elementaranalyse zeigte, dass es sich um zwei Isomere der Formel $C_{19}H_{30}O$ handelt. Beide Verbindungen waren gegen Tetranitromethan ungesättigt und nahmen bei der Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig ein Mol Wasserstoff auf, wobei sie in gesättigte Dihydro-Derivate übergingen.

Diese Ergebnisse führten zur Annahme, dass es sich um zwei isomere ungesättigte Alkohole mit Androstan- oder Ätiocholan-Gerüst handeln könnte. Auf Grund der bekannten Regelmässigkeiten im Aufbau der natürlichen Steroide kam für die Hydroxylgruppe besonders die Stellung an den Kohlenstoffatomen 3 oder 17 und für die Doppelbindung eine von den Kohlenstoffatomen 3 bzw. 5 oder 17 ausgehende Lage in Betracht. Einen Anhaltspunkt zur genaueren Lokalisierung der Hydroxylgruppe und der Doppelbindung lieferte die Farbenreaktion von H. Kägi und K. Miescher⁴⁾, wobei beide Verbindungen in stark positivem Sinne reagierten. Im Gegensatz dazu fiel diese Reaktion mit den Dihydro-Derivaten negativ aus. Nach Kägi und Miescher geben unter den von ihnen angegebenen Bedingungen solche Steroide eine positive Reaktion, die eine Hydroxylgruppe in 17 β -

¹⁾ 4. Mitt. Helv. **26**, 2222 (1943).

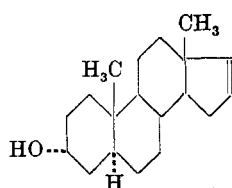
²⁾ L. Ruzicka und V. Prelog, Helv. **26**, 975 (1943).

³⁾ Vgl. die Tabelle Helv. **26**, 984 (1943).

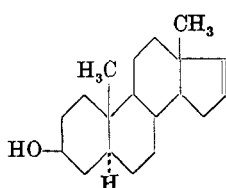
⁴⁾ Helv. **22**, 683 (1939).

Stellung besitzen oder aus letzteren durch Wasserabspaltung entstehen. Für die Verbindungen F und G kamen demnach besonders die Formeln mit der Hydroxyl-Gruppe in Stellung 3 und mit der Doppelbindung in 16,17 in Frage.

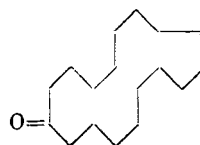
Eine zusätzliche Stütze für diese Annahme und darüber hinaus für eine noch weitergehende Unterscheidungsmöglichkeit bildete das Verhalten gegen Digitonin. Nur die Verbindung G gab ein schwer lösliches Digitonid. Es wurde deshalb als Arbeitshypothese angenommen, dass sich die beiden Verbindungen F und G durch die sterische Lage der Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 3 unterscheiden, und dass die Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 16 und 17 eines Androstan- oder Ätiocholan-Gerüsts liegt, wobei das Androstan-Gerüst als das wahrscheinlichere betrachtet wurde. In den Verbindungen F und G hätten demnach das α - bzw. β -Epimere des Δ^{16} -Androsten-ols-(3) (I bzw. II) vorliegen sollen, deren partialsynthetische Herstellung in der folgenden Abhandlung¹⁾ beschrieben ist.



I Verbindung F



II Verbindung G



III Zibeton

Die Verbindung F erwies sich tatsächlich, wie erwartet, mit dem künstlich hergestellten Δ^{16} -Androsten-ol-(3 α) (I), die Verbindung G mit dem Δ^{16} -Androsten-ol-(3 β) (II) identisch. Die beiden epimeren Δ^{16} -Androsteno-ole-(3) sind neben Testosteron die einzigen Steroide der C_{19} -Reihe, welche bisher aus Testes-extrakten isoliert wurden.

Die partialsynthetisch hergestellten Präparate zeigen den gleichen moschusartigen Geruch, wie die natürlichen Verbindungen F und G. Es ist überraschend, dass diese tetracyclischen Verbindungen, die mit den Sexualhormonen eng verwandt sind, ähnliche Geruchseigenschaften aufweisen, wie gewisse monocyclische Verbindungen mit 15—17 Ringgliedern, unter denen Muscon und Zibeton (III) als die typischen Träger des Moschusgeruches im Tierreich bekannt sind. Immerhin besteht eine formale Analogie im Bau des Zibetons und der Verbindungen F und G, da sich das Ringsystem des Androstans von einem Siebzehnering durch Zufügen der 3 Brückenbindungen zwischen den Ringen A/B, B/C und C/D ableiten

¹⁾ V. Prelog, L. Ruzicka und P. Wieland, Helv. 27, 66 (1944).

lässt¹⁾. Die Verbindungen F und G könnte man darnach als Dimethyl-tetracyclo-zibetole (oder Dimethyl-tetracyclo-heptadecenole) bezeichnen.

Es wäre noch zu erwägen, ob die Verbindungen F und G in den Testes als solche vorkommen, oder ob sie vielleicht erst während der Verarbeitung der Extrakte aus anderen Steroiden, z. B. aus Androstan-diol-(3,17) oder deren Derivaten entstanden sind. Obwohl eine solche Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann, neigen wir vorläufig zur Ansicht, dass es sich um genuine Stoffe handelt, denn die Verbindungen F und G besitzen das unveränderte Androstan-Gerüst, wogegen es bekannt ist, dass die Abspaltung von negativen Substituenten aus der 17-Stellung meistens mit einer Retro-pinakolin-Umlagerung, unter Wanderung der am Kohlenstoffatom 13 sitzenden Methylgruppe verbunden ist²⁾.

Es ist in diesem Zusammenhang hervorzuheben, dass bisher weder aus Organen, noch aus Harn eines der vier epimeren Androstandiole-(3,17) isoliert werden konnte.

Über die physiologische Bedeutung der Verbindungen F und G lässt sich vorläufig nichts aussagen. Eine im biologischen Laboratorium der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel vorgenommene Prüfung der Fraktionen, aus welchen die Verbindungen F und G gewonnen wurden, sowie dieser reinen Verbindungen auf androgene Wirkung im *Fussgänger*-Test verlief negativ.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil ³⁾.

Chromatographische Auftrennung der Fraktion III.

Die Fraktion III des Acetonextraktes aus 181 kg Schweinetestes, deren Herstellung in einer früheren Mitteilung⁴⁾ beschrieben wurde, bildete ein nichtkrystallisierendes Öl und wog 8,3 g. Sie wurde in 150 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) gelöst und an 200 g Aluminiumoxyd (standardisiert nach *Brockmann*, Aktivität II) chromatographiert. Die Menge des Eluierungsmittels betrug 150 cm³ pro Fraktion.

¹⁾ Wir erinnern bei dieser Gelegenheit an die hypothetische Annahme von *A. Windaus* (vgl. *H. Lettré* und *H. H. Inhoffen*: Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe, Stuttgart 1936, S. 103), die sogar in physiologisch-chemische Lehrbücher Eingang gefunden hat, wonach das Zibeton als die Muttersubstanz der Steroide betrachtet wurde. Diese Ansicht ist nach den heutigen Kenntnissen über die Entstehung der Steroide allerdings nicht mehr haltbar.

²⁾ Vgl. *U. Westphal*, *Y. Wang* und *H. Hellmann*, *B.* **72**, 1233 (1939); *Z. angew. Ch.* **51**, 493 (1938); *H. Kügi* und *K. Miescher*, *Helv.* **22**, 683 (1939); *V. Prelog*, *L. Ruzicka* und *P. Wieland*, *Helv.* **27**, 66 (1944).

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁴⁾ *Helv.* **26**, 988 (1943).

Chromatogramm A.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	Weitere Verarbeitung
1—4	Petroläther-Benzol 1:1	1,15	
5—7	Petroläther-Benzol 1:1	0,325	Δ 3,5-Cholestadien-on-(7) ¹⁾
8—12	Benzol	0,225	
13	Benzol-Äther 19:1	0,05	Chromatogramm B
14—16	„ „ 9:1	0,35	
17—19	„ „ 4:1	0,45	
20—21	Benzol-Äther 1:1	0,62	Chromatogramm C
22—23	Benzol-Äther 1:1	0,63	umkrystallisiert aus Methanol: 1,35 g Cholesterin
24—29	„ „ 1:1	1,23	
30	Benzol-Äther 2:3	0,04	
31	„ „ 3:7	0,02	
32	„ „ 1:4	0,08	
33	„ „ 1:9	0,03	
34	Äther	0,01	
35—36	Äther-Methanol 99:1	0,09	
37—41	„ „ 19:1	0,85	
42—43	„ „ 9:1	0,09	
44—46	Äther-Methanol 9:1	0,26	Cholestan-triol-(3 β ,5,6trans) ¹⁾
47	Äther-Methanol 9:1	0,025	
48—49	„ „ 4:1	0,12	
50—55	„ „ 1:1	0,55	
56—58	Methanol	0,18	

Von den Fraktionen 13—19 des Chromatogramms A wurden 0,04 g für die Prüfung auf androgene Wirksamkeit²⁾ verwendet, der Rest von 0,81 g in 100 cm³ Petroläther-Benzol 1:1 gelöst und an 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität III—IV) nochmals chromatographiert (Chromatogramm B). Es wurden Fraktionen von je 50 cm³ aufgefangen.

Chromatogramm B.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	
1—7	Petroläther-Benzol 1:1	0,15	
8	Petroläther-Benzol 1:1	0,01	teilw. krystallisiert
9	„ „ 1:1	0,04	weisse Krystalle, Smp. 100°
10	„ „ 1:1	0,02	„ „ Smp. 107—125°
11—12	„ „ 1:1	0,07	„ „ Smp. 125—135°
13—14	„ „ 1:1	0,03	teilw. krystallisiert
15—16	Petroläther-Benzol 1:1	0,01	
17—18	Benzol	0,08	
19—22	Benzol-Äther 99:1	0,05	
23—26	Äther	0,125	

¹⁾ Helv. **26**, 988 (1943).

²⁾ Vgl. theor. Teil.

Von den Fraktionen 20—21 des Chromatogramms A wurden 0,03 g für die Prüfung auf androgene Wirksamkeit¹⁾ verwendet. Der Rest von 0,59 g wurde in 100 cm³ Petroläther-Benzol 1:1 gelöst und an 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität III—IV) chromatographiert (Chromatogramm C). Es wurden Fraktionen von je 100 cm³ aufgefangen.

Chromatogramm C.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	
1—3	Petroläther-Benzol 1:1	0,08	
4	Petroläther-Benzol 1:1	0,08	teilw. krystallisiert
5	„ „ 1:1	0,10	weisse Krystalle, Smp. 75°
6	„ „ 1:1	0,065	teilw. krystallisiert
7	„ „ 1:1	0,06	teilw. krystallisiert
8	„ „ 1:1	0,07	teilw. krystallisiert
9—11	Petroläther-Benzol 1:1	0,03	
12—13	Benzol-Äther 99:1	0,035	
14—16	Äther	0,035	

Verbindung F, Δ^{16} -Androstenol-(3 α) (I).

Die krystallinen Fraktionen 8—14 des Chromatogramms B wurden zuerst einer Sublimation im „molecular still“ unterworfen. Zwischen 70—100° bei 0,05 mm ging ein farbloses Sublimat über, das aus Pentan umkrystallisiert wurde. Man erhielt so insgesamt 35,4 mg der in zentimeterlangen dünnen Nadeln krystallisierenden Verbindung F, welche ebenso wie die rohen Fraktionen einen eigenartigen moschusartigen Geruch zeigte.

Für die Analyse wurden die reinsten, durch Umlösen erhaltenen Anteile nochmals bei 0,05 mm und 100° sublimiert. Die analysenreine Substanz schmolz bei 142,5—143° und gab mit dem partialsynthetisch hergestellten Δ^{16} -Androstenol-(3 α) keine Schmelzpunktserniedrigung.

$$[\alpha]_D^{20} = +13,1^\circ (\pm 2^\circ) \text{ (c = 0,957 in Chloroform)}$$

$$9,765 \text{ mg Subst. zu } 1,020 \text{ cm}^3, l = 1 \text{ dm, } \alpha_D^{20} = +0,125^\circ (\pm 0,02^\circ)$$

$$3,050 \text{ mg Subst. gaben } 9,266 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 3,006 \text{ mg H}_2\text{O}$$

$$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O} \quad \text{Ber. C } 83,15 \quad \text{H } 11,02\%$$

$$\text{Gef. „ } 82,91 \quad \text{„ } 11,03\%$$

Mit Tetranitromethan färbte sich die Verbindung F deutlich gelb. Sie gab eine blaue Farbenreaktion nach *Kügi* und *Miescher*. In Alkohol gelöst, zeigte sie keine Absorption im U. V. 1 mg Subst. in 0,2 cm³ Alkohol gaben mit 5,0 mg Digitonin in 0,2 cm³ Alkohol und 0,1 cm³ Wasser auch nach mehreren Tagen keine Fällung.

Mikrohydrierung. 7,276 mg Subst. in 3 cm³ Eisessig wurden mit Katalysator aus 10 mg Platinosyd hydriert. Wasserstoffverbrauch 0,680 cm³ H₂ (24,1°, 724 mm) = 100,1% der Theorie für eine Doppelbindung.

Das rohe Hydrierungsprodukt zeigte ein $[\alpha]_D^{20} = +3^\circ (\pm 3^\circ)$ (Chloroform) und schmolz nach Umlösen aus Pentan bei 145,5—146,5°. Es gab keine Farbenreaktion nach *Kügi* und *Miescher* und keine Gelbfärbung mit Tetranitromethan.

Verbindung G, Δ^{16} -Androstenol-(3 β) (II).

Die teilweise krystallinen Fraktionen 5—8 des Chromatogramms C wurden bei 0,05 mm und 100° im „molecular still“ sublimiert. Die erhaltenen farblosen, etwas klebrigen Sublimate wurden unter denselben Bedingungen resublimiert. Durch Umkrystallisieren

¹⁾ Vgl. theor. Teil.

des Sublimates aus wenig Aceton erhielt man 39,5 mg weisse Nadeln mit unscharfem Smp. von 123°, $[\alpha]_D^{20} = +6,5^\circ (\pm 2^\circ)$. Zur weiteren Reinigung wurde in Petroläther gelöst und an Aluminiumoxyd (Aktivität IV) chromatographiert. Aus den Benzoleluaten wurden 15 mg der farblosen, scharf bei 122,5—123° schmelzenden Verbindung G erhalten. Mit dem künstlich hergestellten Δ^{16} -Androsten-ol-(3 β) gab die Verbindung G keine Schmelzpunktserniedrigung, während durch die Verbindung F der Schmelzpunkt um etwa 20° erniedrigt wurde.

Für die Analyse wurde bei 0,03 mm und 100° sublimiert.

3,092 mg Subst. gaben 9,443 mg CO₂ und 3,059 mg H₂O

C₁₉H₃₀O Ber. C 83,15 H 11,02%

Gef. „ 83,34 „ 11,07%

Die Verbindung G gab eine stark positive Farbenreaktion nach K \ddot{a} gi und Miescher und eine Gelbfärbung mit Tetranitromethan. In Alkohol gelöst, zeigte sie keine Absorption im U. V. Der moschusartige Geruch der Verbindung G ist viel schwächer als derjenige der Verbindung F. 1 mg Substanz in 0,2 cm³ Alkohol gaben mit 5 mg Digitonin in 0,2 cm³ Alkohol und 0,1 cm³ Wasser sofort eine reichliche weisse Fällung.

Mikrohydrierung. 5,856 mg Subst. in 3 cm³ Eisessig mit Katalysator aus 10 mg Platinoxid hydriert verbrauchten 0,530 cm³ H₂ (24,1°, 724 mm) = 97,0% der Theorie für eine Doppelbindung.

Das Hydrierungsprodukt gab keine Farbenreaktion nach K \ddot{a} gi und Miescher und keine Gelbfärbung mit Tetranitromethan.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

8. Steroide und Sexualhormone.

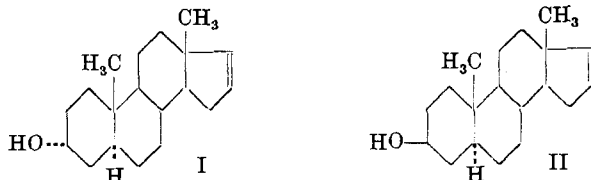
(90. Mitteilung¹⁾).

Über die Herstellung der beiden moschusartig riechenden Δ^{16} -Androstenole-(3) und verwandter Verbindungen

von V. Prelog, L. Ruzicka und P. Wieland.

(16. XII. 43.)

Aus Schweinetestes-Extrakten gelang es, in kleinen Mengen zwei moschusartig riechende Verbindungen zu isolieren²⁾, deren Untersuchung zur arbeitshypothetischen Annahme führte, dass es sich um Verbindungen von der Konstitution I und II handeln könnte.



¹⁾ 89. Mitt. Helv. **26**, 2274 (1943).

²⁾ V. Prelog und L. Ruzicka, Helv. **27**, 61 (1944).