

139. Sexualhormone XVI¹⁾.

Über einige Ester des Testosterons und der Androsteronreihe

von L. Ruzicka und A. Wettstein.

(31. VIII. 36.)

Eine Reihe älterer und neuerer Beobachtungen ergaben ein sehr unterschiedliches Bild der Wirksamkeit der bisher bekannten Ester männlicher Sexualhormone. So erwiesen sich die Benzoate des Testosterons²⁾, des Androstan-3-cis-17-trans-diols³⁾ und des Dihydrotestosterons⁴⁾ selbst in einer Tagesdosis von 1 mg am Hahnenkamm als unwirksam, während im Rattentest das Testosteron-benzoat das freie Hormon an Wirksamkeit noch übertraf und die anderen Benzoate hier wenigstens eine gewisse Wirkung ausübten, die allerdings nicht an die der nicht benzoyletierten Verbindungen heranreichte. Umgekehrt war Androsteron-benzoat in höheren Dosen im Hahnenkammtest, nicht aber im Rattentest, stark protrahiert wirksam. Ferner wurde festgestellt, dass Acetylierung die Hahnenkammeinheit eines männlichen Hormons nur wenig ändert; solche Beobachtungen lagen vor z. B. beim Androsteron-acetat⁵⁾, beim 3-Monoacetat sowie beim Diacetat des Androstandiols⁶⁾ und auch beim Testosteron-acetat⁷⁾. Wir hatten schon früher mitgeteilt⁸⁾, dass bei wiederholter Prüfung des Testosterons durch *E. Tschopp* die Hahnenkammeinheit unverändert blieb, die Wirkungen beim Rattentest jedoch variierten: die zuerst beobachteten hohen Gewichte der Adnexdrüsen sanken später auf etwa ein Fünftel. Die Ursache dieser Erscheinung ist wahrscheinlich darin zu suchen, dass anfänglich zur Auflösung des Testosterons ein lange an der Luft gestandenes Öl, das freie Fettsäuren enthielt und daher *X*-Stoffwirkung zeigte, verwendet wurde. Nach den inzwischen bekannt gewordenen Untersuchungen von *Miescher*, *Wettstein* und *Tschopp*⁹⁾ führt nämlich die Gegenwart gewisser Fettsäuren, wie u. a. Palmitinsäure, zu einer Vermehrfachung der Wirkung des Testosterons auf die Adnexorgane kastrierter Ratten, ohne

1) XV. Mitt. Helv. **19**, 842 (1936).

2) Helv. **18**, 1482 (1935).

3) Und zwar sowohl das 3-Benzoat wie das 17-Benzoat; Helv. **19**, 106 (1936).

4) Helv. **19**, 106 (1936).

5) *Bulemandt* und *Tscherning*, Z. physiol. Ch. **229**, 187 (1934); *Ruzicka*, *Goldberg* und *Meyer*, Helv. **18**, 210 (1935).

6) Helv. **18**, 213 (1935)

7) *E. Tschopp*, Arch. intern. Pharmacodyn. Thérapie **52**, 381 (1936).

8) Helv. **19**, 360 (1936).

9) Chemistry and Industry, **65**, 238 (1936); Schweiz. Med. Wochschr. **66**, 310 (1936), sowie Biochem. J. 1936, im Druck.

aber auf den Hahnenkammtest von Einfluss zu sein. Im Gegensatz zu diesen Befunden beim Testosteron blieb bei wiederholten Untersuchungen des Testosteron-acetats dessen Wirkung im Rattentest unverändert und wurde auch nicht durch Zusatz von Palmitinsäure beeinflusst.

Diese Beobachtungen veranlassten die Herstellung und genauere Untersuchung einer grösseren Reihe von Testosteron-estern¹⁾, von denen die bisher eingehender untersuchten in dieser Arbeit beschrieben werden. Da *Miescher, Wettstein* und *Tschopp* an anderem Orte ausführlich über die physiologische Untersuchung der Ester berichten²⁾, sei hier nur zusammenfassend auf die wichtigsten Resultate hingewiesen.

Die internationalen Einheiten³⁾ der untersuchten Testosteron-ester waren, am Hahnenkamm gemessen, folgende: beim Formiat, Acetat und Propionat 20 γ , beim Butyrat 60 γ , beim Isobutyrat 70 γ , beim Valerianat 200 γ , beim Isovalerianat 250 γ , beim Caprinat 350 γ und beim Palmitat, Stearat und Benzoat⁴⁾ über 1000 γ , während bei Testosteron selbst 15 γ der internationalen Einheit entsprechen. Sehr überraschend war dagegen der Verlauf der Wirkung in der Reihe der aufgezählten Ester beim Rattentest (Gewichtszunahme der Adnexorgane kastrierter Ratten). Die quantitativen Verhältnisse schwanken je nach der Art der Verabreichung der Hormonlösung. Besonders charakteristisch ist die Höhe der bei einmaliger Injektion von je 2 mg der Ester (bzw. Testosteron) beobachteten Wirkungsmaxima, die beim Formiat und Acetat etwa das 3- bis 4-fache derjenigen des Testosterons beträgt und beim Propionat bis Valerianat auf das 12- bis 17-fache ansteigt. Der durch das Formiat und Acetat erzielte Effekt entspricht der durch Anwesenheit von X-Stoff oder Palmitinsäure verstärkten Wirkung des Testosterons, während die erwähnten mittleren Ester sogar nochmals drei- bis viermal stärker wirksam sind. Bemerkenswert ist ferner, dass Palmitinsäure und Stearinsäure als Esterkomponente zu einer starken Wirkungsverminderung führen, sowie dass keiner der Ester durch Beimengung von Palmitinsäure in seiner Wirkung beeinflusst werden kann. Diese Resultate legen die Erwägung nahe, dass in den Testikeln das Testosteron in Form eines physiologisch besonders günstigen Esters vorliegen könnte. Es müssen daher die im Rattentest wirksamsten Ester des Testosterons einer eingehenden klinischen Prüfung unterzogen werden.

¹⁾ Ausser einer grösseren Anzahl von Testosteron-estern, wurden aber auch Ester anderer Hormone, wie z. B. des Androsterons und Androstan-diols, dargestellt, worüber in späteren Mitteilungen berichtet werden soll.

²⁾ Schweiz. Med. Wochschr. **66**, 763 (1936) sowie Biochem. J. **1936**, im Druck, s. a. *A. S. Parkes*, The Lancet, **231**, 674 (1936).

³⁾ Vgl. Helv. **18**, 1491 (1935).

⁴⁾ Der Schmelzpunkt des Benzoats wurde bei Verarbeitung grösserer Substanzmengen neuerdings bei 198–200° festgestellt.

Es sei noch hervorgehoben, dass in den Estern, vom Propionat an bis zu den Valerianaten, die bisher im Rattentest aktivsten männlichen Hormone vorliegen. Gleichzeitig weisen sie auch den verhältnismässig grössten Unterschied auf zwischen der Wirkung auf den Hahnenkamm und derjenigen auf die Adnexorgane der Ratte. So braucht man sowohl nach der Zahl der Hahnenkammeinheiten, wie übrigens auch rein gewichtsmässig, etwa 10mal mehr Testosteron als Testosteron-propionat zur Erzielung der gleichen Wirkung an der Ratte¹⁾.

Die präparative Herstellung der Testosteron-ester wurde nach verschiedenen bekannten Methoden durchgeführt. Die in dieser Arbeit ausserdem beschriebenen Succinate wurden bereitet, um eine Prüfung der männlichen Hormone in wässriger Lösung in Form von Alkalisalzen zu ermöglichen. Die Succinate wurden auch in Öllösung physiologisch ausgewertet. Es sei hier, ohne auf Einzelheiten einzugehen, auf die eingehende biologische Prüfung der von uns hergestellten Succinate durch *Korenchevsky*²⁾ hingewiesen.

Experimenteller Teil.

Testosteron-formiat.

1 Teil³⁾ Testosteron wurde mit 6 Teilen reiner Ameisensäure 3½ Stunden am Rückfluss auf 125° erhitzt. Danach goss man das Reaktionsprodukt in Wasser, zog erschöpfend mit Äther aus, wusch die Ätherlösung mit Wasser und dampfte sie ein. Den Rückstand krystallisierte man 1mal aus Hexan um, sublimierte dann im Hochvakuum (0,001 mm, 110°) und krystallisierte das Sublimat erneut 2 mal aus Hexan um bis zum konstanten Smp. 127—129°⁴⁾.

3,706; 3,552 mg Subst. gaben 10,30; 9,90 mg CO₂ und 2,95; 2,81 mg H₂O
 $C_{20}H_{28}O_3$ Ber. C 75,90 H 8,92%
 Gef. „ 75,80; 76,01 „ 8,91; 8,85%

Testosteron-propionat.

1 Teil Testosteron wurde in 4 Teilen trockenem Pyridin gelöst und nach Zugabe von 1,6 Teilen Propionsäure-anhydrid 1½ Stunden auf 125° erhitzt. Das Reaktionsgemisch goss man in Wasser. Nach einigem Stehen erstarrte die ölige Schicht zu derben Krystallen, die abgesaugt, mit Wasser nachgewaschen und über Phosphor-pentoxyd getrocknet wurden. Sie lieferten nach dreimaligem Um-

¹⁾ Bestimmt im üblichen 10-Tage-Test.

²⁾ *V. Korenchevsky, M. Dennison und S. L. Simpson, Biochem. J. 29, 2534 (1935); V. Korenchevsky und M. Dennison, J. Path. Bact. 42, 91 (1936).*

³⁾ In der ganzen Arbeit ist darunter „Gewichtsteil“ zu verstehen.

⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

krystallisieren den analysenreinen Testosteron-propionsäure-ester vom Smp. 121—123°.

3,606; 3,705 mg Subst. gaben 10,15; 10,40 mg CO₂ und 3,00; 3,08 mg H₂O
 $C_{22}H_{32}O_3$ Ber. C 76,68 H 9,37%
 Gef. „ 76,77; 76,55 „ 9,31; 9,30%

Testosteron-n-butyrat.

Man erhitzte 1 Teil Testosteron mit 4 Teilen trockenem Pyridin und 2 Teilen n-Buttersäure-anhydrid 1½ Stunden auf 125°. Dann verdünnte man mit Wasser, saugte das nach einigem Stehen krystallisierte Produkt ab, wusch es mit Wasser nach und trocknete es über Phosphorpenoxyd. Es wurde 2 mal aus Hexan und 1 mal aus 70-proz. Methylalkohol umkrystallisiert und so in Form feiner, leicht verfilzter Nadeln vom Smp. 111—113° erhalten.

3,630; 3,700 mg Subst. gaben 10,27; 10,46 mg CO₂ und 3,10; 3,20 mg H₂O
 $C_{23}H_{34}O_3$ Ber. C 77,04 H 9,57%
 Gef. „ 77,16; 77,10 „ 9,56; 9,68%

Testosteron-isobutyrat.

In analoger Weise wie der n-Buttersäure-ester wurde durch 2¾ stündige Einwirkung von Isobuttersäure-anhydrid auf Testosteron in Pyridin-Lösung der Isobuttersäure-ester erhalten, der, 1 mal aus Hexan und 2 mal aus verdünntem Aceton umkrystallisiert, bei 134—136° schmolz. Derbe Nadeln.

3,384; 3,342 mg Subst. gaben 9,57; 9,465 mg CO₂ und 2,91; 2,89 mg H₂O
 $C_{23}H_{34}O_3$ Ber. C 77,04 H 9,57%
 Gef. „ 77,13; 77,24 „ 9,62; 9,68%

Testosteron-n-valerianat.

Diesen Ester stellte man völlig analog dem n-Buttersäureester dar. Er zeigte nach 2 maliger Umkrystallisation aus Hexan und 1 maliger aus verdünntem Aceton den Smp. 109—111°.

3,486 mg Subst. gaben 9,905 mg CO₂ und 3,10 mg H₂O
 $C_{24}H_{36}O_3$ Ber. C 77,36 H 9,75%
 Gef. „ 77,49 „ 9,95%

Testosteron-isovalerianat.

Eine Lösung von 1 Teil Testosteron in 3 Teilen trockenem Pyridin wurde unter Kühlen mit 0,8 Teilen Isovalerylchlorid versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Am Morgen goss man das Reaktionsprodukt in 2-n. Schwefelsäure und zog erschöpfend mit Äther aus. Die Ätherlösung lieferte beim Abdampfen ein Öl, das nach Aufnehmen in verdünntem Aceton zur Krystallisation gebracht werden konnte. Nach 6 maligem Umkrystallisieren aus verdünntem Aceton erhielt man den Testosteron-isovaleriansäure-ester als derbe Nadeln vom Smp. 138—140°. Er

wurde auch durch Einwirkung von Isovaleriansäure-anhydrid auf eine Pyridin-Lösung von Testosteron dargestellt.

3,522 mg Subst. gaben 9,99 mg CO₂ und 3,13 mg H₂O
 $C_{24}H_{36}O_3$ Ber. C 77,36 H 9,75%
 Gef. „ 77,36 „ 9,94%

Testosteron-caprinat.

Gleiche Gewichtsmengen Testosteron und Caprinsäure wurden unter Stickstoff 3 Stunden auf 200° erhitzt. Dann nahm man in Äther auf, wusch die Ätherlösung wiederholt mit 2-n. Sodalösung und schliesslich mit Wasser und dampfte sie ein. Der langsam krystallisierende Rückstand wurde 4mal aus verdünntem Methylalkohol umkrystallisiert und schmolz dann bei 55—57°.

3,626; 3,517 mg Subst. gaben 10,49; 10,14 mg CO₂ und 3,445; 3,34 mg H₂O
 $C_{29}H_{46}O_3$ Ber. C 78,67 H 10,48%
 Gef. „ 78,90; 78,63 „ 10,63; 10,63%

Testosteron-palmitat.

Zu einer Lösung von 1 Teil Testosteron in 3 Teilen trockenem Pyridin gab man in der Kälte 1,3 Teile Palmitinsäure-chlorid zu. Unter gelegentlichem Schütteln wurde das Reaktionsgemisch 12 Stunden stehengelassen und dann, nachdem es fast völlig krystallin erstarrt war, in 2-proz. Schwefelsäure gegossen. Man schüttelte mit Äther aus, wusch die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser und dampfte sie ein. Den Rückstand krystallisierte man 3mal aus Methylalkohol, bis zum Smp. 72—74°, um.

3,900; 3,318 mg Subst. gaben 11,41; 9,71 mg CO₂ und 3,905; 3,26 mg H₂O
 $C_{35}H_{58}O_3$ Ber. C 79,78 H 11,10%
 Gef. „ 79,79; 79,81 „ 11,21; 11,00%

Testosteron-stearat.

Man stellte diesen Ester ganz analog dem Testosteron-palmitinsäure-ester her. Schmelzpunkt nach 4maliger Umkrystallisation aus Methanol: 79—80°.

2,988 mg Subst. gaben 8,76 mg CO₂ und 3,05 mg H₂O
 $C_{37}H_{62}O_3$ Ber. C 80,07 H 11,27%
 Gef. „ 79,96 „ 11,42%

Testosteron-succinat.

Man erhitzte gleiche Gewichtsteile Testosteron und Bernsteinsäure-anhydrid mit 5 Teilen Pyridin 4½ Stunden auf 125°. Das dunkel gefärbte Reaktionsprodukt wurde mit 2-n. Sodalösung und Äther geschüttelt, die alkalische Lösung angesäuert und der ausgeflockte Ester abgesaugt, mit Wasser gewaschen und über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Man krystallisierte ihn aus Benzol-Heptan, dann aus reinem Benzol und schliesslich 2mal aus Isopropyläther

um. Der Testosteron-bernsteinsäure-ester hat die Eigenschaft dimorph zu krystallisieren, was sich auch nach weiterem 2maligem Umlösen aus Isopropyläther nicht änderte. Die Schmelzpunkte der beiden Krystallformen liegen bei 183—185° bzw. 191—193°.

3,085; 3,769 mg Subst. gaben 8,035; 9,820 mg CO₂ und 2,225; 2,795 mg H₂O

$C_{23}H_{32}O_5$ Ber. C 71,08 H 8,31%
Gef. „ 71,03; 71,06 „ 8,07; 8,03%

Disuccinat des Androstan-3-cis-17-trans-diols.

(Bearbeitet von W. Klarer.)

1 Teil Androstan-diol (Smp. 223°) wurde mit 2 Teilen Bernsteinsäure-anhydrid in 3 Teilen Pyridin 15 Stunden auf 80—85° erhitzt. Nach dem Abdestillieren des Pyridins im Vakuum wurde der Rückstand in Äther aufgenommen und mit Sodalösung geschüttelt. Das beim Ansäuern der Sodalösung ausgefallene Produkt wurde mit Äther ausgezogen. Umkrystallisieren des nach dem Verdunsten des Äthers erhaltenen Rückstandes führte zu dem bei 139—140° schmelzenden Disuccinat.

13,76 mg Subst. verbrauchten 5,842 cm³ 0,01-n. Kalilauge
 $C_{27}H_{40}O_8$ Ber. Äquiv.-Gew. 246 Gef. 235

Alkalisalze von Succinaten der Androsteronreihe.

(Bearbeitet von Jul. Meyer.)

Succinat des Androsterons¹⁾. Das Natriumsalz ist in Wasser ziemlich schwer löslich, so dass es aus einer 0,5-proz. Lösung auszukrystallisieren beginnt. Das Lithiumsalz ist dagegen noch in 10-proz. Lösung klar löslich.

3-Succinat des Androstan-3-cis-17-trans-diols²⁾. Bei dieser Substanz zeigen Natrium-, Kalium- und Lithiumsalz annähernd die gleichen Löslichkeitsverhältnisse. In 1 proz. Lösung bilden die genannten drei Alkalisalze eine dünne durchsichtige Gallerte, die auf die Hälfte verdünnt flüssig wird; die erhaltene Lösung ist aber schwach getrübt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich und Wissenschaftliche Laboratorien der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel, Pharmazeut. Abteilung.

¹⁾ Helv. 18, 215 (1935).

²⁾ Helv. 18, 997 (1935).