8. Sexualhormone III [1]).

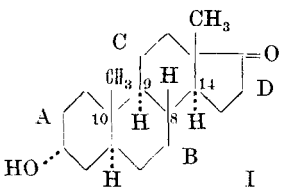
Zur Konstitutionsaufklärung des Androsterons

von **L. Ruzicka, M. W. Goldberg** und **H. Wirz.**

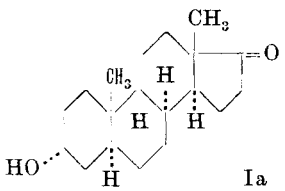
(20. XII. 34.)

Im vorigen Oktoberheft dieser Zeitschrift[1]) haben wir die synthetische Bereitung des männlichen Sexualhormons Androsteron beschrieben. Einige in der seither erschienenen Literatur enthaltenen Bemerkungen veranlassen uns zu einer genaueren Stellungnahme zu einzelnen Punkten.

1. *J. W. Cook*[2]) meint, dass die sterischen Formeln, die wir für das Androsteron (I) sowie seine drei Stereoisomeren vorgeschlagen haben[3]) (und mithin auch die vier sterischen Formeln für die als Ausgangskörper der Bereitung der Oxyketone benützten Hydrosterine[4])) zu Kritik Anlass geben „on the ground that they assign definite configurations to rings A and C with respect to carbon atoms C_9 and C_{10}, and to rings B and D with respect to C_8 and C_{14}; no information bearing on these questions is at present available".



I



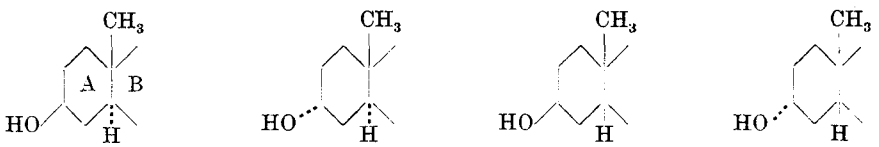
Ia

Beide Formeln: cis, trans, trans, trans.

Diese Bemerkung hat ihren Ursprung darin, dass *Cook* aus unseren, anscheinend nicht genügend erläuterten, Formeln mehr herausgelesen hat, als wir damit ausdrücken wollten. Unsere Vorschläge zur räumlichen Formulierung der 4 Stereoisomeren sind nämlich vollständig enthalten in den 4 Präfixen, die wir unter jede Formel geschrieben haben, also z. B. bei Androsteron und epi-Dihydro-cholesterin: cis, trans, trans, trans, wobei immer das erste Präfix die relative Stellung der Hydroxylgruppe zum H-Atom der benachbarten Ringverknüpfungsstelle[5]) betrifft, und die anderen drei Präfixe auf die aufeinanderfolgenden 3 Ringverknüpfungsstellen A/B, B/C und C/D Bezug haben. Über den relativen sterischen Bau der ein-

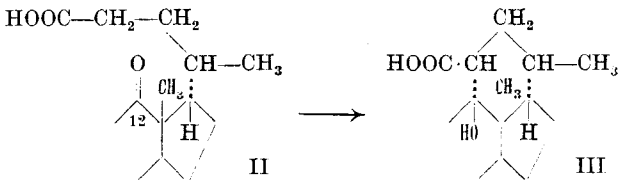
[1]) Helv. **17**, 1395 (1934).
[2]) Nature, **1934**, 758.
[3]) Helv. **17**, 1396 (1934).
[4]) Helv. **17**, 1410 (1934).
[5]) Unter „Ringverknüpfungsstelle" sind beide, zweien Ringen gemeinsame, C-Atome gemeint.

zelnen C-Atome der benachbarten Ringverknüpfungsstellen konnten und wollten wir nichts aussagen. Um ganz deutlich zu sein, geben wir hier eine der anderen ebenfalls möglichen sterischen Formeln für Androsteron (Ia), die, ebensogut wie Formel I, unserer Definition (ausgedrückt durch die 4 Präfixe) entspricht. Was in diesen Formeln in erster Linie zur Kritik Anlass geben kann, und worauf wir in unseren Abhandlungen auch ausdrücklich hingewiesen haben, ist die sterische Zuteilung der Hydroxylgruppe, die möglicherweise umgekehrt liegen könnte als unser Vorschlag lautet. Zu letzterem sind wir, fussend auf der *Auwers-Skita*'schen Regel, hauptsächlich dadurch ermutigt worden, weil sich in unseren Formeln beim Koprosterin das Hydroxyl zu beiden Substituenten[1]) an der benachbarten Ringverknüpfungsstelle (A/B) in cis- und beim epi-Koprosterin in trans-Stellung befindet. Bei Dihydro-cholesterin und Koprosterin muss natürlich die räumliche Stellung des Hydroxyls in bezug auf die Ringverknüpfungsstellen B/C, C/D und die benachbarte Methylgruppe die gleiche sein; ebenso muss in dieser Beziehung zwischen den beiden epi-Derivaten Gleichheit herrschen. Die Sicherheit der Forderungen des letzten Satzes ergibt sich aus der gleichzeitigen Bildung von Dihydro-cholesterin und Koprosterin bei der Hydrierung von Allo-cholesterin.



Dihydro-cholesterin epi-Dihydro-cholesterin Koprosterin epi-Koprosterin

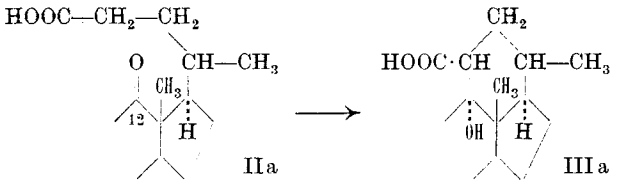
Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass man bei den sterischen Formeln der Hydrosterine noch ein fünftes Präfix, betreffend die relative räumliche Lage der langen Seitenkette zum benachbarten quartären Methyl, hätte berücksichtigen können, das nach *Wieland* und *Dane*[2]) trans lauten könnte. Durch Betrachtungen am Modell sowie unter Berücksichtigung der von *Wieland* und *Dane* diskutierten Ringschlussreaktion zwischen der langen Seitenkette und dem C_{12} (bei II bzw. IIa) scheint uns auch die cis-Stellung gleich wahrscheinlich zu sein:



trans-Stellung von CH_3 und der langen Seitenkette.

[1]) Die Unsicherheit unseres Vorschlages liegt darin, dass man nicht ganz sicher ist, ob die räumliche Stellung des Hydroxyls in Bezug auf *diese Substituenten* (CH_3 und H) *oder* aber vielleicht auf *die Ringbindungen zwischen A/B* der *Auwers-Skita*'schen Regel angepasst werden soll.

[2]) Z. physiol. Ch. **216**, 98 (1934).



IIa IIIa

cis-Stellung von CH_3 und der langen Seitenkette.

Man sieht also, dass in beiden Fällen das Zwischenprodukt (III bzw. IIIa), von dem allein die Ringbildung abhängig ist, mit einem an den Ringen C und D cis-ständig gebundenen neuen Sechsring formuliert werden kann. Und ebenso gut wäre, wenn sterisch erwünscht, trans-Ständigkeit möglich.

2. Wir haben in unserer zitierten Abhandlung angeführt[1]), dass der „Weg unserer künstlichen Gewinnung des Androsterons in grossen Zügen vielleicht auch der von der Natur befolgte sein dürfte: Hydrierung von Cholesterin, Epimerisierung der Hydroxylgruppe und Abbau der langen Seitenkette". *Cook*[2]) glaubt, dass wir damit etwas über die wirkliche Reihenfolge der in der Natur vor sich gehenden Umsetzungen aussagen wollten und knüpft daran eine Diskussion. Wir sind der Überzeugung, dass gar keine Anhaltspunkte gegeben sind (auch nicht das von *Butenandt* und *Tscherning* neben Androsteron aus Männerharn isolierte Dehydro-androsteron), um über diese Reihenfolge ernstliche Betrachtungen anstellen zu können,

3. Wir machten in unserer Abhandlung[3]) folgende Feststellung: „Die synthetische Bereitung des Androsterons bildet die erste vollständige Konstitutionsaufklärung eines Sexualhormons. Es liegt hier der seltene Fall der Konstitutionsaufklärung eines kompliziert gebauten Naturkörpers vor, von dem noch keine Einzelheiten über die Konstitution bekannt waren." In völliger Übereinstimmung steht damit das Referat über unsere Abhandlung in Nature[4]): „By this simple experiment[5]), the structure of a complexe natural product has been completely elucidated and its stereochemical relationship to the sterols established. Apart from speculation, the only previous chemical knowledge of the hormone was that it was a saturated hydroxyketone of the probable formula $C_{19}H_{30}O_2$." *A. Butenandt* und *H. Dannenbaum*[6]) sind entgegengesetzter Meinung, indem sie schreiben[6]): „Nach unserer Ansicht hat die Konstitutionsermittelung des Androsterons den in vielen Fällen üblichen Weg genommen: die Richtigkeit einer auf Grund von analytischen Studien aufgestellten, nur in Einzelheiten unsicheren Formel ist durch ihre Synthese endgültig bewiesen worden."

[1]) Helv. **17**, 1402 (1934).
[2]) l. c.
[3]) Helv. **17**, 1402 (1934).
[4]) Nature **1934**, 563.
[5]) Gemeint ist die Oxydation von epi-Dihydro-cholesterin-acetat.
[6]) Z. physiol. Ch. **229**, 201 (1934).

Letztere Behauptung stellt nun leider eine vollständige Verkennung der Tatsachen dar. Dies folgt schon daraus, dass die erste experimentelle Abhandlung von *Butenandt* über die Isolierung des Androsterons und die Herstellung von Derivaten und Umwandlungsprodukten desselben zwei Monate nach unserer Bekanntgabe[1]) der synthetischen Bereitung erschienen ist. In dieser Abhandlung vermerken *Butenandt* und *Tscherning*[2]): „von den dargestellten Derivaten ist jedoch keines identisch mit einem in der Literatur beschriebenen Stoff gleicher Zusammensetzung." In einer folgenden Abhandlung glauben nun *Butenandt* und *Dannenbaum* wenigstens nachträglich den ersten auf analytischer Grundlage beruhenden Beweis für die Zugehörigkeit des Androsterons zur Sterinreihe erbracht zu haben. Ein bei der Verarbeitung von Männerharn von diesen Autoren isoliertes Chlorketon, das in Androsteron überführbar ist, „liefert mit Essigsäure-anhydrid und konz. Schwefelsäure ein Farbspiel, wie es für natürliche Sterine charakteristisch ist. Nach diesem Ergebnis zweifeln wir nicht mehr daran, dass wir es mit einem Sterinderivat zu tun haben[3])." Dieses Chlorketon gibt bei der *Liebermann*'schen Farbenreaktion das Farbenspiel gelb und nachher rosa.

Es wurde schon vielfach der diagnostische Wert der *Liebermann*'schen Farbenreaktion stark übertrieben, worauf auch in der Literatur aufmerksam gemacht wurde[4]). Um nochmals mit allem Nachdruck auf diesen Umstand hinzuweisen, stellen wir in einem Anhang einige *Liebermann*'sche Reaktionen zusammen, die von uns mit Verbindungen der Diterpen-, Triterpen- und Sterinreihe ausgeführt wurden. Man sieht daraus, dass weder der Eintritt einer Farbenreaktion noch das Farbenspiel etwas genaueres über das Kohlenstoffgerüst aussagt. Wir verweisen insbesondere auf die Tatsache, dass die beiden Oxy-triterpen-carbonsäuren Oleanolsäure und Ursolsäure, deren Kohlenstoffgerüst von dem des Cholesterins sehr verschieden ist[5]), genau das gleiche Farbenspiel bei der Liebermann'schen Reaktion geben wie Cholesterin: Übergang von rotviolett über blau in grün. Also das Farbenspiel beim erwähnten Chlorketon beweist nicht im geringsten mehr, als man schon aus der Bruttoformel desselben und seinem

[1]) Vortrag vom 8. Sept. 1934, vgl. Verhandlungen der Schweiz. Naturforsch. Ges. **1934**, 427.

[2]) Z. physiol. Ch. **229**, 191 (1934).

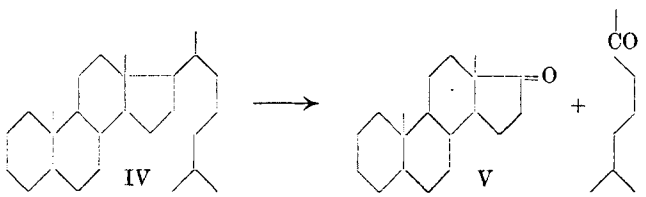
[3]) Z. physiol. Ch. **229**, 194 (1934).

[4]) Anm. bei der Korrektur: So ist z. B. in *Richter-Anschütz*, Organische Chemie II. 1, S. 535 (1935), angegeben, dass „die Farbenreaktionen nicht spezifisch sind für die Sterine". *Butenandt*, als Bearbeiter des Abschnittes „Hormone", führt aber dennoch auf S. 573 und 578 des gleichen Bandes die „Sterinfarbreaktionen" als einzige Stütze für das Steringerüst des Androsterons an.

[5]) Helv. **15**, 431 (1932).

ungesättigten Charakter weiss: dass es nämlich ein tetracyclisches, einfach ungesättigtes Ringsystem enthält.

4. Es ist dagegen in der Abhandlung von *Butenandt* und *Dannenbaum*[1]) ein Umwandlungsprodukt von Androsteron beschrieben, das wir jetzt zur Durchführung des ersten auf analytischer Grundlage beruhenden Beweises für den Bau des Kohlenstoffgerüstes, und somit für die Zugehörigkeit zur Cholestanreihe verwerten können, nämlich das gesättigte Keton $C_{19}H_{30}O$, Androstanon. *Butenandt* und *Dannenbaum* haben schon festgestellt, dass dieses Keton vom Ätio-cholanon-(17) verschieden ist, und bemerken, dass es vielleicht mit dem noch unbekannten Ätio-allocholanon-(17) identisch sein könnte. Diese „Vermutung" stellt ja nach unserer synthetischen Herstellung des Androsterons eine Selbstverständlichkeit dar. Wir haben inzwischen durch Oxydation von Cholestan (IV) mit Chromsäure neben dem schon vor langer Zeit von *Windaus* und *Resau*[2]) bei dieser Operation nachgewiesenen Methyl-isohexylketon auch das zweite Spaltstück fassen können: das Ätio-allocholanon-(17) (V), das, wie zu erwarten war, den gleichen Schmelzpunkt aufweist wie das Androstanon von *Butenandt* und *Dannenbaum* (121—122° korr.). Ebenso stimmt auch der Zersetzungspunkt des Semicarbazons (gegen 270° korr.) überein.



5. Die Behauptung von *Butenandt* und *Dannenbaum*[1]): „Der Inhalt der vorliegenden 3 Mitteilungen über Androsteron stellt unsere bis zum April dieses Jahres erzielten Ergebnisse .... dar", stimmt leider mit den bekannten Tatsachen nicht überein, denn in seinen publizierten Vorträgen im April und Mai 1934 hat *Butenandt*[3]) weder das Androstan noch das Androstanon erwähnt, mit deren Hilfe er jetzt die Verschiedenheit des Ringsystems des Androsterons von dem des Koprosterins bewiesen hat, sondern er leitete im Gegensatz dazu noch im Mai[3]) das Hormon arbeitshypothetisch von Koprosterin ab.

6. *Butenandt* und *Dannenbaum* schreiben[4]): „Das aus dem Chlorketon dargestellte Dehydro-androsteron, über das wir bereits im

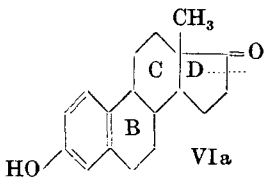
[1]) l. c. S. 206.

[2]) *Windaus* und *Resau*, B. **46**, 1246 (1913).

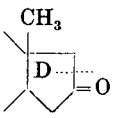
[3]) Verhandl. d. Deutsch. Ges. f. inn. Mediz. **1934**, 276; Wien. Klin. Wochenschr. **1934**, No. 29 u. 30. [4]) l. c. 197.

Frühjahr[1]) berichteten, war der erste Stoff mit der Wirkung des männlichen Sexualhormons, der auf chemischem Wege aus inaktivem Material dargestellt wurde." Wir müssen in diesem Zusammenhange darauf hinweisen, dass die erste Reaktion dieser Art in unserer am 9. I. 1934 bei der Redaktion dieser Zeitschrift eingegangenen Abhandlung[2]) beschrieben ist: das Stereoisomere des Androsterons, das bei der Oxydation von Dihydro-cholesterin-acetat mit Chromsäure bereitet wurde, und dem im Hahnenkammtest $^1/_7$ der Wirkung des Androsterons zukommt.

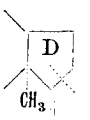
7. *Butenandt* und *Tscherning*[3]) bemerken: „Das dem Androsteron offenbar nahe verwandte Follikelhormon $C_{18}H_{22}O_2$ ist durch die einwandfrei gesicherte Formel (VIa) wiederzugeben." Als Literaturstelle, wo diese Formel einwandfrei bewiesen sein soll, geben die Autoren eine Abhandlung von *Butenandt, Weidlich* und *Thompson*[4]) an. Wir haben an anderer Stelle[5]) den Werdegang unserer jetzigen Kenntnisse über die Konstitution des Follikelhormons geschildert und kommen in Übereinstimmung mit *Cook*[6]) zur Schlussfolgerung, dass zur Zeit abgesehen von den 16 denkbaren stereoisomeren Formen des Kohlenstoffgerüstes VIa noch 4 verschiedene Strukturformeln für das Follikelhormon möglich sind (VIa, b, c und d). Nach der von *Butenandt, Weidlich* und *Thompson*[4]) beschriebenen Gewinnung von 1,2-Dimethyl-



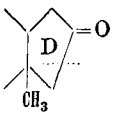
VIa



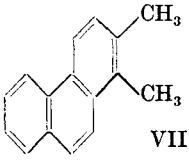
VIb



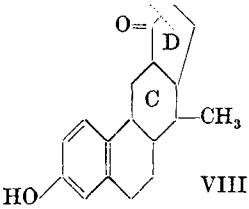
VIc



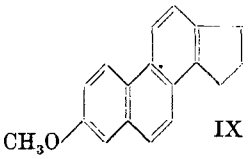
VId



VII



VIII



IX

phenanthren (VII) aus Follikelhormon wäre übrigens ausserdem noch ein ganz anderes Ringsystem für das Hormon (VIII) möglich[7]),

[1]) Gemeint ist die beiläufige Erwähnung dieser Umwandlung in Vorträgen im April und Mai 1934, vergl. Anm. 3.

[2]) Helv. **17**, 1389 (1934).

[3]) Z. physiol. Ch. **229**, 191 (1934).

[4]) B. **66**, 601 (1933).

[5]) Naturwissenschaften **1935**, 44.

[6]) Nature **1934**, 759.

[7]) In den Formeln VIa—d und VIII ist durch einen punktierten Strich die Stelle der oxydativen Sprengung des Fünfringes zu einer Dicarbonsäure angegeben, die nach Dehydrierung und Zinkstaubdestillation zum Kohlenwasserstoff VII führen würde.

das erst durch den von *Cohen, Cook, Hewett* und *Girard*[1]) aufgefundenen Übergang des Follikelhormons in das Methoxy-cyclopenteno-phenanthren (IX) einwandfrei ausgeschlossen wurde.

Wenn es auch ausserordentlich wahrscheinlich ist, dass sich die Formel VIa des Follikelhormons als richtig erweisen wird, wohl sogar in der dem Sterin- und Gallensäuregerüst entsprechenden sterischen Form, so glauben wir nicht, dass es im Interesse einer exakten Wissenschaft liegt, wenn *Butenandt* über die noch ausstehenden zu leistenden Beweise[2]) für diese Formel hinwegzugehen versucht.

Unsere synthetische Bereitung des Androsterons stellt daher den ersten einwandfreien Beweis für die Ableitung eines Sexualhormons von einem Sterin dar.

Der *Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel* danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

Experimentelles.

Die Liebermann'sche Farbenreaktion bei einigen polycyclischen Di- und Triterpen- sowie Sterinderivaten[3]).

Es wurden jeweils etwa 10 mg Substanz in 1 cm³ Chloroform gelöst und einige Tropfen Essigsäure-anhydrid und 1 Tropfen konz. Schwefelsäure zugefügt. Das entstehende Farbenspiel ist hier durch Angabe der nacheinander eintretenden Farbentöne beschrieben. Das Farbenspiel ist übrigens von der Konzentration weitgehend abhängig.

Diterpensäuren.

Dextropimarsäure (rotviolett, bräunlich); Dihydro-dextropimarsäure (orange, braungelb); Tetrahydro-dextropimarsäure (ganz schwach gelbrosa), es ist möglich, dass letzteres Präparat noch Spuren der Dihydrosäure enthielt.

Agathen-disäure (gelb), Iso-agathen-disäure (gelb).

Triterpenalkohole und deren Acetate.

Amyrin (tiefrotviolett).

Lupeol (gelbrot, blutrot); Dihydro-lupeol (karminrot, violett).

Betulin (rosa, violettrot); Dihydro-betulin (violettrot, stark violett), *bei letzterem sind die auftretenden Farben wesentlich intensiver als beim Betulin!*

Betulin-diacetat (gelbrosa, braunrot); Dihydro-betulin-diacetat (schwach blaurosa, hell rotviolett), letzteres Präparat war vielleicht noch schwach ungesättigt.

Dihydro-„hederabetulin"-diacetat (farblos).

Triterpen-oxysäuren.

Oleanolsäure (rotviolett, blau, grün).

Ursolsäure (rotviolett, blau, grün).

Gypsogenin (rotviolett, bräunlich).

Caryocarsapogenin (rotviolett, bräunlich).

Hederagenin (karminrot, gelbrosa, braun).

---

[1]) Soc. **1934**, 653.

[2]) Anm. bei der Korrektur: Aus Chem. and Ind. **1935**, 14 ist zu entnehmen, dass *Cook* und Mitarb. Follikelhormon inzwischen in 7-Methoxyl-3'-methyl-1,2-cyclopenteno-phenanthren überführen konnten, wodurch *Formel VIa die bisher fehlende Stütze für die Richtigkeit der Struktur* erhalten hat. *Zu klären bleibt also noch der sterische Bau.*

[3]) Wir verzichten hier auf Angabe der Literaturstellen, wo die *Liebermann*'sche Reaktion früher für einzelne dieser Verbindungen schon beschrieben wurde.

Sterinderivate.

Cholestan (farblos).

epi-Dihydro-cholesterin (grün, und in verdünnterer Lösung: rötlich, violett, blau, grün); epi-Dihydro-cholesterin-acetat (praktisch farblos).

Ergostanol-acetat (farblos).

Androsteron (gelb, olivegrün, eigelb).

Oxydation von Cholestan mit Chromsäure.

40 g Cholestan wurden in 2,1 Liter Eisessig bei 85—90° mit einer Lösung von 57 g Chromtrioxyd in 620 cm³ Eisessig und 60 cm³ Wasser in der üblichen Weise oxydiert. Der vom unveränderten Cholestan befreite neutrale Anteil der Oxydation betrug nach dem Erhitzen im Vakuum auf 100° 4,5 g. Das daraus bereitete Semicarbazon besteht aus einem Gemisch krystallisierter und amorpher Anteile. Eine Trennung derselben konnte bewirkt werden durch Auskochen mit Alkohol, worin nur der krystallisierte Teil gut löslich ist. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol wurde letzterer in Form stäbchenartiger Krystalle vom Smp. gegen 270° korr. (unter Zersetzung nach vorhergehendem Sintern) erhalten. Es liegt das Semicarbazon des Ätio-allocholanon-(17) vor.

$C_{20}H_{33}ON_3$ Ber. N 12,7 Gef. 13,1%

Der in Alkohol schwerlösliche Anteil des Semicarbazons ist amorph und wurde nicht weiter untersucht.

Aus den sauren Anteilen der Oxydation wurde über das schwerlösliche Kaliumsalz die Allo-cholansäure isoliert, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Eisessig bei 169—170° schmilzt, in Übereinstimmung mit der Angabe von *Wieland, Dane* und *Martius*[1]) bei der aus Dehydro-hyo-desoxycholsäure bereiteten Allo-cholansäure. Der Smp. von 162°, den *Windaus* und *Neukirchen*[2]) für die durch Oxydation von Cholestan mit Chromsäure entstehende Allocholansäure angegeben haben, ist also zu tief.

Ätio-allocholanon-(17). Das Semicarbazon vom Smp. gegen 270° wurde mit konz. Salzsäure einige Minuten am kochenden Wasserbade erwärmt. Die Krystalle werden dabei rasch in ein Öl umgewandelt. Es wird mit Äther ausgezogen. Nach dem Waschen der ätherischen Lösung mit Wasser und Sodalösung wird das Lösungsmittel verdampft. Der völlig krystallisierende Rückstand schmolz bei 116°. Durch Umkrystallisieren aus Methylalkohol, dann Sublimieren im Hochvakuum bei etwa 90° und nochmaliges Umkrystallisieren werden bei 121—122° korr. schmelzende Krystalle erhalten.

3,481 mg Subst. gaben 10,56 mg CO_2 und 3,44 mg H_2O

$C_{19}H_{30}O$ Ber. C 83,09 H 11,02%

Gef. „ 82,71 „ 11,05%

Zürich, Organ.-chem. Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule.

[1]) Z. physiol. Ch. **215**, 20 (1933). [2]) B. **52**, 1915 (1919).