

## Isomere des Follikelhormons: $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(4,17 $\beta$ ) und $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(2,17 $\beta$ )<sup>1</sup>

VON HEINZ DANNENBERG, DANKWART MEIER UND HANS JOACHIM GROSS

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München\*

(Der Schriftleitung zugegangen am 4. April 1967)

**Zusammenfassung:** Ausgehend von  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat wurden über entsprechende Nitro- und Amino-Verbindungen  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(4,17 $\beta$ ) und  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(2,17 $\beta$ ) dargestellt. Im ALLEN-DOISY-Test hatte das

4-Isomere  $1/250$  und das 2-Isomere  $1/2000$ — $1/1000$  der Aktivität des Östradiols-(3,17 $\beta$ ). Ein auf einem teilweise anderen Weg dargestelltes Präparat des 2-Isomeren zeigte die gleiche Wirksamkeit.

**Summary:**  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Oestratrienol-(17 $\beta$ )-acetate was nitrated, and the resulting mixture of nitro-derivatives was reduced to the corresponding amines. The amine mixture was fractionated by chromatography into 4-amino-, 3-amino- and 2-amino- $\Delta^{1,3,5(10)}$ -oestratrienol-(17 $\beta$ ). The 4-amine and the 2-amine were converted into the isomers of the follicular hormone,  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -oestratriendiol-(4,17 $\beta$ ) and  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -oestratriendiol-(2,17 $\beta$ ) (purified via the diacetates) by diazotisation and boiling.

In the ALLEN-DOISY test, the 4-isomer was 250 times less active than oestradiol-(3,17 $\beta$ ), the 2-isomer was 1000—2000 times weaker; the two corresponding amines were inactive in doses of 100  $\gamma$ . The 2,17 $\beta$ -dihydroxy compound was also prepared by a partly different method, which ensured the absence of contamination by oestradiol-(3,17 $\beta$ ). The two preparations had the same physiological activity, irrespective of their method of synthesis.

Beziehungen zwischen Konstitution und physiologischer Wirksamkeit sind bei natürlichen Östrogenen unter verschiedenen Gesichtspunkten betrachtet worden<sup>2,3</sup>. Welche Bedeutung der Stellung der Hydroxylgruppe am aromatischen Ring A des Follikelhormons Östradiol-(3,17 $\beta$ )<sup>4</sup> (IX) dabei zukommt, ist bisher nur zum Teil untersucht worden. So wurde zwar die Darstellung von  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -

Östratriendiol-(2,17 $\beta$ ) beschrieben<sup>5,6</sup>, genaue Angaben über seine physiologische Wirksamkeit fehlen aber. Das  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(4,17 $\beta$ ) ist noch unbekannt, sein 1-Methyl-Homologes wirkt nur schwach östrogen<sup>7</sup>, doch lassen sich aus der Wirksamkeit von Methylhomologen keine Rückschlüsse auf diejenige der Muttersubstanz ziehen (vgl. z. B. I. c.<sup>3</sup>).

\* Postanschrift: Prof. Dr. H. DANNENBERG, 8 München 15, Goethestraße 31.

<sup>1</sup> VI. Mitteil. der Reihe „Über Aminologe natürlicher Östrogene“; V. Mitteil.: P. SCHMIALEK u. H. DANNENBERG, diese Z. **344**, 223 [1966].

<sup>2</sup> C. L. HUGGINS u. E. V. JENSEN, J. exp. Medicine **102**, 335 [1955].

<sup>3</sup> H. J. RINGOLD, in „Mechanism of Action of Steroidal Hormones“, Pergamon Press, Oxford 1961.

<sup>4</sup> Zur spezifischen Bindung in Erfolgsorganen s. E. V. JENSEN u. H. J. JACOBSON, Recent Progr. Hormone Res. **18**, 387 [1962]; E. V. JENSEN, Dtsch. med. Wschr. **88**, 1229 [1963].

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung von  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(4,17 $\beta$ ) (X) und  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratriendiol-(2,17 $\beta$ ) (VIII) diente  $\Delta^{1,3,5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (Ib), (zur Darstellung s. u.). Dieses ließ sich nach einer bei anderen benzoiden

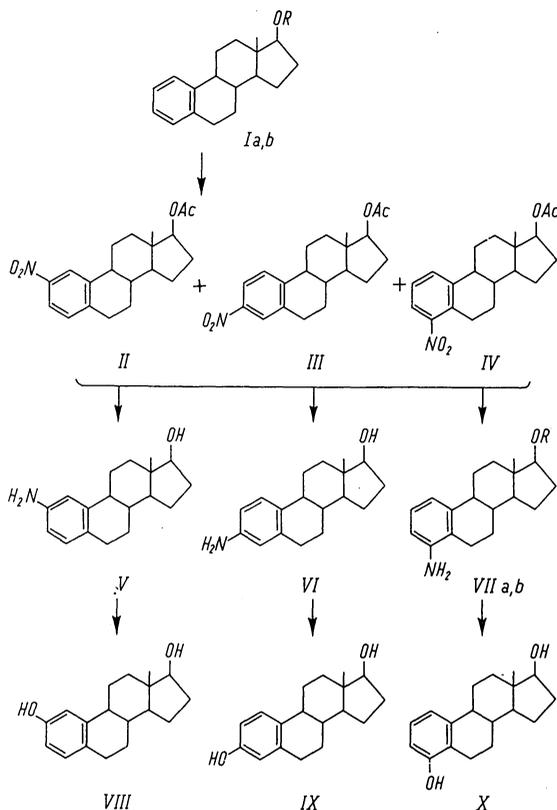
<sup>5</sup> J. FISHMAN u. M. TOMASZ, J. org. Chemistry **27**, 365 [1962]; diese Autoren beschreiben die Verbindung als sehr schwach östrogen wirksam.

<sup>6</sup> H. DANNENBERG u. TH. KÖHLER, Chem. Ber. **97**, 140 [1964].

<sup>7</sup> H. DANNENBERG u. H. J. GROSS, Liebigs Ann. Chem. **692**, 180 [1966].

7 anal

Steroiden bewährten Methode<sup>6-8</sup> in guter Ausbeute zu einem Gemisch der Nitro-Verbindungen II, III und IV nitrieren<sup>9</sup>, auf dessen Trennung wir auf Grund unserer Erfahrungen mit Nitro-Verbindungen dieser Art<sup>8</sup> verzichteten. Die Reduktion des Ge-



misches nach BALCOLM und FURST<sup>10</sup> ergab, wenn sie über 22 Std. bei 20°C durchgeführt wurde<sup>11</sup>, unter gleichzeitiger Hydrazinolyse der 17-Acetoxygruppe ein Gemisch der entsprechenden Amine, das sich chromatographisch gut auftrennen ließ. Man

<sup>8</sup> H. DANNENBERG, D. DANNENBERG-VON DRESLER u. TH. KÖHLER, *Arzneimittel-Forsch.* **14**, 780 [1964].

<sup>9</sup> Für die Bildung der 1-Nitro-Verbindung lieferte das Ergebnis der Reduktion keinen eindeutigen Hinweis.

<sup>10</sup> D. BALCOLM u. A. FURST, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4334 [1953].

<sup>11</sup> Bei Ausführung der Reduktion nach der Originalvorschrift (30 Min. Erwärmen auf 55°C, dann 15 Min. bei Siedehitze) wurde als einziges Amin das Acetat VII b erhalten; der größte Teil des Reaktionsproduktes hatte sich zersetzt.

erhielt der Reihe nach 4-Amino- (VII a; Konstitutionsbeweis s. u.), 3-Amino-<sup>12</sup> (VI) und 2-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )<sup>6</sup> (V) im Mengenverhältnis 1:0,8:1,3 bei einer Gesamtausbeute von 65% d. Th.

Die Schmp. von V und VI, deren Zuordnung auf Grund ihrer UV-, IR- und NMR-Spektren erfolgte, stimmten nicht mit den Angaben der Literatur überein. V sollte nach eigenen Angaben bei 135–137°C schmelzen<sup>6</sup>, hatte aber einen Schmp. von 173–175°C; Übereinstimmung in den physikalischen Daten, auch im Schmp. bestand aber bei seinem Diacetat<sup>6</sup>. VI, für das ein Schmp. von 143°C angegeben wird, zeigte nach Umkristallisation und Sublimation einen Schmp. von 63 bis 65°C ebenso wie ein aus 19-Nortestosteron-oxim durch SEMMLER-WOLFF-Aromatisierung über sein Diacetat dargestelltes Präparat<sup>13</sup>; beim Diacetat bestand wieder Übereinstimmung.

Die Amine VII a und V wurden, wie für die Darstellung von Östradiol-(3.17 $\beta$ ) (IX) aus dem Amin VI angegeben<sup>12</sup>, diazotiert und zu den entsprechenden Phenolen  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ ) (X) und dem bereits bekannten  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ )<sup>5,6</sup> (VIII) verkocht, die über ihre Diacetate gereinigt wurden.

Für X ergab sich die 4-Stellung der phenolischen Hydroxylgruppe aus dem Ergebnis der Oxydation mit Chromtrioxid in Eisessig. Die langwelligen UV-Absorptionsbanden des dabei resultierenden 6-Oxophenols und seines Phenolat-Ions entsprachen in ihrer Lage denjenigen des *o*-Hydroxy-acetophenons und seines Phenolat-Ions (die *o*-, *m*- und *p*-Hydroxy-acetophenone und ihre Phenolat-Ionen zeigen verschiedene UV-Spektren<sup>14,15</sup>).

Beweisend für den Substitutionstyp des 4-Amins VII a und des dazugehörigen Phenols X sind ferner ihre NMR-Spektren. Aus ihnen geht hervor, daß in diesen Verbindungen 3 Wasserstoffatome am aromatischen Ring nebeneinander stehen (ABC-System mit  $J_{AB} = J_{BC} = 7,5$  Hz,  $J_{AC} = 1,8-2$  Hz). In der Abbildung ist das Spinsystem der aromatischen Protonen von VII a einem entsprechenden berechneten Spinsystem gegenübergestellt.

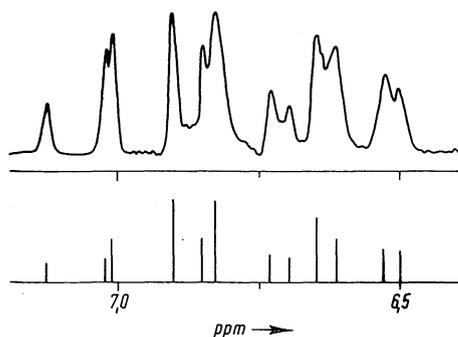
Die vorstehend beschriebene Darstellungsmethode für die Isomeren VIII und X des Östradiols-(3.17 $\beta$ ) (IX) hat eine Schwierigkeit. Bei der Reduktion des

<sup>12</sup> E. HECKER, *Chem. Ber.* **92**, 3198 [1959].

<sup>13</sup> A. M. GOLD u. E. SCHWENK, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 2198 [1959].

<sup>14</sup> L. DOUB u. J. M. VANDENBELT, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2714 [1947].

<sup>15</sup> H. DANNENBERG, *Z. Naturforsch.* **4b**, 327 [1949].



Vergleich des Spinsystems der aromatischen Protonen im NMR-Spektrum von 4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (VIIa) (oben) mit dem berechneten Spinsystem eines entsprechenden Systems (darunter).\*

IBM 7090 (Rechenzentrum Garching bei München)  
Programm Frequent IV

eingetragen wurden:

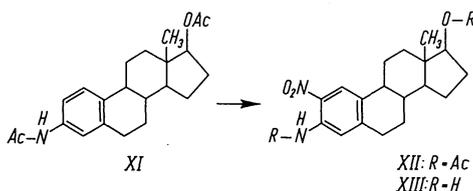
Kern 1	6,81 ppm	$J_{12}$	7,5 Hz
Kern 2	7,04 ppm	$J_{23}$	7,5 Hz
Kern 3	6,57 ppm	$J_{13}$	1,8 Hz

Gemisches der Nitro-Verbindungen wird auch das 3-Amin VI gebildet. Eine unvollkommene Trennung der Amine V, VI und VIIa könnte zu Präparaten von V und VIIa führen, die mit VI verunreinigt sind. Bei der Diazotierung und Verkochung würde daraus das hochwirksame Östradiol-(3.17 $\beta$ ) (IX) entstehen; selbst geringe Beimengungen von IX könnten die Ergebnisse des Tiertestes verfälschen und eine östrogene Wirkung von VIII bzw. X vortäuschen. Obwohl die Amine sich chromatographisch voneinander trennen ließen, diese Trennung sehr sorgfältig durchgeführt wurde und außerdem noch eine chromatographische Trennung der Diacetate der Phenole VIII und X erfolgte, ist es besser, einen Weg einzuschlagen, welcher eine Verunreinigung mit IX sicher ausschließt. Deshalb wählten wir einen entsprechenden Reaktionsweg mit einem Ausgangsmaterial, welches in 3-Stellung einen Substituenten trägt. Dieser sollte sich im weiteren Verlauf nach einer Methode entfernen lassen, welche die Bildung eines 3-Phenols ausschließt.

Als blockierende Gruppe wurde die Acetamino-Gruppe, als Ausgangsmaterial 3-Acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat<sup>13</sup> (XI) gewählt.

\* Wir danken Herrn Dr. J. SONNENBICHLER für die Berechnung, dem Rechenzentrum Garching bei München für die Ausführung.

Seine Nitrierung führte aber nicht, wie nach den Ergebnissen der Nitrierung von Östron<sup>16</sup> zu erwarten gewesen wäre, zu einem Gemisch der 2-Nitro- und 4-Nitro-Verbindung, sondern ausschließlich zu 2-Nitro-3-acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (XII). Die 2-Stellung der Nitrogruppe ergab sich eindeutig aus dem NMR-Spektrum, welches Signale von zwei isoliert stehenden aromatischen Protonen ohne Metakopplung zeigt. Saure Verseifung lieferte das Hydrochlorid von 2-Nitro-3-amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )(XIII).



Das luft- und wärmeempfindliche freie Amin wurde in Eisessig/Salzsäure diazotiert; die Diazoniumverbindung wurde mit hypophosphoriger Säure<sup>17,18</sup> zum 2-Nitro- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (II) reduziert (bei dieser Reaktionsfolge wurden gleichzeitig die 17-Hydroxylgruppen acetyliert). II wurde anschließend auf dem bereits angegebenen Weg über das Amin V in  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ )<sup>5,6</sup> (VIII) überführt. Die auf beiden Wegen erhaltenen Präparate von V und VIII waren identisch.

#### Zur Darstellung von $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ ) (Ia)

Für die Darstellung dieser Verbindung sind drei Wege bekannt:

1. Ausgangsmaterial 19-Nortestosteron: Überführung seines Oxims durch SEMMLER-WOLFF-Aromatisierung<sup>19</sup> in 3-Acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat<sup>13</sup>, salzsaure Hydrolyse zum Hydrochlorid desamins VI, Diazotierung des freienamins und Reduktion der Diazonium-Verbindung mit hypophosphoriger Säure<sup>17,18</sup>. Die Ausbeute beträgt etwa 15% d. Th. bezogen auf 19-Nortestosteron.

<sup>16</sup> J. B. NIEDERL u. H. J. VOGEL, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2566 [1949]; zur Zuordnung der Nitro-östrone s. A. HILLMANN-ELIES, G. HILLMANN u. W. SCHIEDT, Z. Naturforsch. **8b**, 436 [1953].

<sup>17</sup> N. KORNBLUM, Org. Reactions **2**, 262 [1944].

<sup>18</sup> E. HECKER, Chem. Ber. **95**, 977 [1962].

<sup>19</sup> H. DANNENBERG u. H. J. GROSS, Ber. Bunsenges. physik. Chem. **69**, 513 [1965].

2. Ausgangsmaterial: *Östron*: Reduktion von Östrontosylat mit geeignetem RANEY-Nickel in siedendem Äthanol<sup>20</sup> zu einem Gemisch von 17 $\alpha$ - und 17 $\beta$ -Hydroxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrien<sup>21, 22</sup>, Oxydation des Gemisches zur 17-Oxo-Verbindung und selektive Reduktion mit Natriumborhydrid<sup>22</sup> zur 17 $\beta$ -Hydroxyverbindung Ia. Die Ausbeute beträgt etwa 28% d. Th. bezogen auf Östron.

3. Ausgangsmaterial *Östron*: Selektive Reduktion mit Natriumborhydrid<sup>23</sup> zum Östradiol-(3.17 $\beta$ ) und Reduktion seines 3-Diäthylphosphats in ätherischer Lösung mit Lithium in flüssigem Ammoniak zu Ia<sup>24</sup>. Die Ausbeute beträgt 65% d. Th. an reinem Ia, bezogen auf Östron (78% an Rohprodukt<sup>24</sup>). Diese Methode ist allen anderen vorzuziehen.

### Ergebnisse der physiologischen Prüfung

Die Phenole X und VIII sowie die entsprechenden Amine VIIa und V wurden im ALLEN-DOISY-Test an der kastrierten weiblichen Maus (NMRJ-Stamm) auf östrogene Wirksamkeit geprüft. Als vollwirksam wird diejenige Dosis angesehen, bei welcher 7–8 von 10 Tieren innerhalb von 48 Std. positiv reagieren (Schollenstadium). Östradiol-(3.17 $\beta$ ) (IX) ist in diesem Test mit 0,1  $\gamma$  voll wirksam.

Tab. 1 zeigt die Ergebnisse der Tierversuche. Danach hat  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ ) (X)  $1/250$  der Wirksamkeit (vollwirksame Dosis 25  $\gamma$ /Tier) und  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ ) (VIII)  $1/2000$  bis  $1/1000$  der Wirksamkeit (vollwirksame Dosis 100 bis 200  $\gamma$ /Tier) des Follikelhormons Östradiol-(3.17 $\beta$ ) (IX). Die auf den beiden verschiedenen Wegen dargestellten Präparate von VIII zeigten keine Unterschiede in ihrer Wirksamkeit. Da in diesem Falle eine Verunreinigung des auf dem ersten Wege dargestellten Präparats von VIII mit Östradiol-(3.17 $\beta$ ) auszuschließen ist, dürfte auch X in dieser Beziehung rein und damit die gegenüber VIII etwas erhöhte Wirksamkeit reell sein.

Die beiden Amine, 4-Amino- (VIIa) und 2-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (V) sind mit 100  $\gamma$ /Tier unwirksam.

<sup>20</sup> G. W. KENNER u. M. A. MURRAY, J. chem. Soc. [London] 1949, part V, S178.

<sup>21</sup> E. V. JENSEN, persönliche Mitteilung.

<sup>22</sup> Dissertation TH. KÖHLER, München 1963.

<sup>23</sup> J. H. BIELS, J. Amer. chem. Soc. 73, 847 [1951].

<sup>24</sup> A. H. GOLDKAMP, W. M. HOEHN, R. A. MIKULEC, E. F. NUTTING u. D. L. COOK, J. med. Chem. 8, 409 [1965].

Tab. 1. Ergebnis der Tierversuche im ALLEN-DOISY-Test.

Verbindung	Dosis/Tier [ $\gamma$ ]	Zahl der eingesetzten Tiere	Zahl der positiv reag. Tiere
$\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ )	10	10	2
	25	10	7
	100	10	10 <sup>a)</sup>
$\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ )	50 <sup>b)</sup>	10	2
	100 <sup>b)</sup>	12	8
	100 <sup>c)</sup>	10	8
	200 <sup>b)</sup>	10	8
4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )	100	10	0
2-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )	100	10	0

<sup>a)</sup> Positiv bereits nach 40 Std.

<sup>b)</sup> Darstellung aus einem Gemisch der Nitroverbindungen II–IV.

<sup>c)</sup> Darstellung aus der 3-Acetamino-Verbindung XI.

Wir danken Frau I. BÜRGER, Fräulein E. SEIFERT und Fräulein T. SCHILD für die Aufnahme der UV-, IR- bzw. NMR-Spektren, Herrn Dr. J. SONNENBICHLER für die Diskussion der letzteren. Ganz besonderen Dank schulden wir Fräulein I. BRACHMANN für die Durchführung der Tierversuche.

### Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden gemessen mit dem selbstregistrierenden Beckman-UV-Spektrophotometer DK 2, die IR-Spektren mit dem selbstregistrierenden Perkin Elmer Spektrophotometer Modell 21 und dem selbstregistrierenden Perkin Elmer Gitterspektrophotometer Modell 225, die NMR-Spektren mit dem NMR-Spektrometer Varian A-60. Alle NMR-spektroskopischen Daten ( $\delta$ -Werte) beziehen sich auf Tetramethylsilan als inneren Standard. Zahlen in Klammern hinter den ppm-Angaben bedeuten relative Intensitäten. Abkürzungen: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, J = Kopplungskonstante in Hertz. Die Massenspektren wurden gemessen mit dem Massenspektrometer CH 4 oder SM 1 der Friedrich Krupp Meß- und Analystechnik, Bremen.

Die Mikroanalysen wurden ausgeführt von I. Beetz, vormals A. Schoeller, Kronach/Oberfranken. Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Optische Drehwerte wurden gemessen mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter Carl Zeiss LEP A 1 0,005<sup>9</sup>.

Säulenchromatographien wurden durchgeführt an Aluminiumoxid der Firma M. Woelm, Eschwege, in den Aktivitätsstufen der BROCKMANNschen Skala, sowie an Kieselgel (Korngröße 0,05–0,2 mm) der E. Merck AG.

Darmstadt. Fraktionen der Säulenchromatographie wurden auf ihre Zusammensetzung, isolierte Substanzen auf ihre Einheitlichkeit geprüft durch Dünnschichtchromatographie (Kammerübersättigung) an Kieselgel G der E. Merck AG, Darmstadt, mit einem Zusatz von 1% Leuchtstoff „Super“ der Firma Riedel de Haen, Hannover. Die Substanzen wurden zur Kontrolle auf dem Dünnschichtchromatogramm durch Besprühen mit einer wäßrigen Lösung von Kaliumpermanganat (2%) und Natriumcarbonat (5%) sichtbar gemacht.

*Isomere (2-, 3- und 4-) Nitro- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetate (II, III und IV)*

907 mg  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ ) wurden in 22 ml Acetanhydrid 50 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Lösung des entstandenen  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ )-acetats (Ib) mit 16 ml Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Die farblose Lösung wurde mit einer Eis-Kochsalz-Kältemischung auf  $-70^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Innerhalb von 11 Min. wurde eine eisgekühlte Mischung aus 4,8 ml Eisessig, 4,8 ml Acetanhydrid und 3,2 ml Salpetersäure ( $d = 1,52 \text{ g/cm}^3$ ) vorsichtig unter stetigem Rühren zugetropft. Nach 3stdg. Stehenlassen im Dunkeln bei Raumtemperatur wurde die gelbe Lösung in eisgekühlte Kochsalzlösung gegossen, das Gemisch wurde 2mal ausgeäthert. Die vereinigten Ätherphasen wurden 2mal mit Natriumcarbonat- und 6mal mit Kochsalzlösungen neutral gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das gelbe ölige Rohprodukt wurde in Chlorform aufgelöst und an neutralem Aluminiumoxid (Akt.-St. I, aufgeschlämmt in Benzin vom Sdp.  $60-70^{\circ}\text{C}$ ) chromatographiert. Die Elution mit Chloroform ergab 989 mg (82% d. Th. bezogen auf  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratrienol-(17 $\beta$ )) eines zartgelben Kristallisates, das zwischen  $130$  und  $185^{\circ}\text{C}$  schmolz. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte nur einen Fleck mit dem  $R_F$ -Wert 0,71 (Chloroform).

UV-Spektrum,  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ : in Äthanol 277 m $\mu$  (5100).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{\text{C=O}}$  5,83  $\mu$ ;  $\nu_{\text{NO}_2}$  6,64 und 7,49  $\mu$ ;  $\nu_{\text{O-C}}$  8,10  $\mu$ ;  $\nu_{\text{O-C}}$  9,66  $\mu$ ;  $\lambda\gamma$  13,33 und 13,61  $\mu$ .

NMR-Spektrum (in  $\text{CCl}_4$ ): 18- $\text{CH}_3$  0,84 ppm (3) s;  $\text{CH}_3$ - (Acetatrest) 2,01 ppm (3) s; aromatische Protonen am Ring A komplizierte Spinsysteme um 7,27 und 7,95 ppm.

*4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (VIIb)*

1,825 g (5,6 mMol) des vorstehend beschriebenen Gemisches isomerer Nitroprodukte wurden in 125 ml Äthanol gelöst. Die gelbe Lösung wurde mit 0,5 ml Hydrazin (96proz.) und vier Spatelspitzen RANEY-Nickel versetzt. Die Suspension wurde 30 Min. auf  $55^{\circ}\text{C}$  gehalten und nach Zugabe von weiteren 0,25 ml Hydrazin 15 Min. am Rückflußkühler gekocht. Nach Abtrennen des Katalysators und Abdestillieren des Lösungsmittels wurden 1,75 g eines schwarzbraunen Öls erhalten. Die-

ses Rohprodukt wurde in Benzol gelöst und an Aluminiumoxid (neutral, Akt.-St. II–III, aufgeschlämmt in Benzin vom Sdp.  $40-60^{\circ}\text{C}$ ) chromatographiert. Die Elution mit Benzol/Chloroform 10:1 lieferte 391 mg eines orangefarbenen Kristallisates, welches bei der Dünnschichtchromatographie in fünf Substanzen auftrennte. Dieses Produkt wurde in Benzol gelöst und an einer Aluminiumoxidsäule (neutral, Aktivitätsstufe II–III) chromatographiert. Eluiert wurde mit Benzol. Die Fraktionen 13 bis 19 enthielten 193 mg Ausgangsmaterial, die Fraktionen 41 bis 57 71 mg einer einheitlichen Komponente, die nach erneuter Chromatographie und Umlösen aus Benzol/Benzin ( $40-60^{\circ}\text{C}$ ) 4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (VIIb) in farblosen Kristallen ergab. Schmp.  $186-190^{\circ}\text{C}$  (Zers.),  $R_F$  0,43 ( $\text{CHCl}_3$ ).

UV-Spektrum:  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ : in Äthanol 236 (7030) und 286 m $\mu$  (1880); in 2 N HCl 262 (639) und 271 m $\mu$  (502). IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{\text{NH}_2}$  2,87 und 2,96  $\mu$ ,  $\nu_{\text{C=O}}$  5,77  $\mu$ ,  $\nu_{\text{O-C}}$  8,00  $\mu$ ,  $\nu_{\text{O-C}}$  9,75  $\mu$ ,  $\lambda\gamma$  12,76 und 13,59  $\mu$ .

NMR-Spektrum (in  $\text{CDCl}_3$ ): 18- $\text{CH}_3$  0,81 ppm (3) s;  $\text{CH}_3$ - (Acetatrest) 2,06 ppm (3) s;  $\text{NH}_2$  3,45 ppm (2) s; aromatische Protonen an C-1 6,83 ppm (1) q,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ ,  $J = 1,8 \text{ Hz}$ ; an C-2 7,06 ppm (1) t,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ ; an C-3 6,59 ppm (1) q,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ ,  $J = 1,8 \text{ Hz}$ .

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 313, ber. 313.

*2-Amino-, 3-Amino- und 4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (V, VI und VIIa)*

2,11 g des Gemisches von Nitroprodukten wurden unter leichtem Erwärmen in 400 ml Äthanol gelöst. Die Lösung wurde mit 12 ml Hydrazinhydrat (96proz.) und zwei Spatelspitzen aktivem RANEY-Nickel versetzt. Nach 10 Min. wurden erneut 12 ml Hydrazinhydrat und eine gehäufte Spatelspitze RANEY-Nickel zugegeben. Die sich allmählich grün verfärbende Lösung wurde bei Raumtemperatur im Dunkeln 22 Std. gerührt. Nach Abtrennen des Nickels und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde ein Kristallisat erhalten, das im Dünnschichtchromatogramm drei Substanzen erkennen ließ. Dieses Rohprodukt wurde in Benzol gelöst und an einer Aluminiumoxidsäule (neutral, Aktivitätsstufe III) chromatographiert. Die Elution mit Benzol/Chloroform 100:2 lieferte 350 mg 4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (VIIa), Schmp.  $186-188^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{21}$ :  $+40^{\circ}$  (Äthanol),  $R_F$  0,56 (Essigester), 32% der Gesamtausbeute.

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}$  (271,4) Ber.: C 79,66 H 9,28

Gef.: C 80,23 H 9,29

UV-Spektrum,  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ : in Äthanol 236,5 (6880) und 285,5 m $\mu$  (1770); in 0,1N HCl (50% Äthanol) (211) (9420), 262,5 (775) und 270,5 m $\mu$  (625).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{\text{OH}}$  und  $\nu_{\text{NH}_2}$  2,90 (2,94) und 2,98  $\mu$ ,  $\lambda\gamma$  12,82 und 13,45  $\mu$ .

NMR-Spektrum (in  $\text{CDCl}_3$ ):  $18\text{-CH}_3$  0,78 ppm (3) s;  $\text{NH}_2$  2,75 ppm (2) s; aromatische Protonen an C-1 6,81 ppm (1) q,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 1,8$  Hz, an C-2 7,04 ppm (1) t,  $J = 7,5$  Hz, an C-3 6,57 ppm (1) q,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 1,8$  Hz (vgl. Abb. 1).

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 271, ber. 271.

Nach der Isolierung des 4-Amins wurde die Chromatographiesäule mit Chloroform ausgewaschen. Das Eluat, das der Dünnschichtchromatographie nach nun nur noch zwei Substanzen enthielt, wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt, in Benzol/Chloroform 100:5 gelöst und an einer Aluminiumoxidsäule gleicher Dimension und gleicher Qualität erneut chromatographiert. Die Elution mit Benzol/Chloroform 10:1 lieferte ein einheitliches Produkt, das sich am Licht dunkel färbte und nach Rechromatographie an Aluminiumoxid (neutral, Aktivitätsstufe II—III) 278 mg kristallines 3-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (VI) (26% der Gesamtausbeute) ergab; Schmp. nach Sublimation 63 bis 65°C,  $R_F$ -Wert 0,52 (Essigester).

NMR-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ ):  $18\text{-CH}_3$ : 0,78 ppm (3) s; aromatische Protonen an C-1 7,06 ppm (1) d,  $J = 9$  Hz, an C-2 6,51 ppm (1) q,  $J_1 = 9$  Hz,  $J_2 = 2$  Hz, und an C-4 6,45 ppm (1) d,  $J = 2$  Hz.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 271, ber. 271.

Die Elution mit Benzol/Chloroform 4:1 lieferte 445 mg 2-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (V) (42% der Gesamtausbeute), Schmp. 173—175°;  $[\alpha]_D^{21}$ : +112° (Äthanol);  $R_F$  0,48 (Essigester).

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}$  (271,4) Ber.: C 79,66 H 9,28  
Gef.: C 80,06 H 9,30

UV-Spektrum,  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ : in Äthanol 239 (8120) und 292  $\text{m}\mu$  (1920); in 0,1N HCl (50% Äthanol) (212) (8500), 261 (505), 265 (624) und 274  $\text{m}\mu$  (624).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{\text{OH}}$  und  $\nu_{\text{NH}_2}$  2,90, 2,97 und 3,03  $\mu$ ;  $\lambda \gamma$  11,72, 12,42 und 13,47  $\mu$ .

NMR-Spektrum (in  $\text{CDCl}_3$ ):  $18\text{-CH}_3$  0,78 ppm (3) s;  $\text{NH}_2$  2,7 ppm (2) s; aromatische Protonen an C-1 6,67 ppm (1) d,  $J = 2$  Hz, an C-3 6,5 ppm (1) q,  $J = 8$  Hz,  $J = 2$  Hz, und an C-4 6,89 ppm (1) d,  $J = 8$  Hz.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 271, ber. 271.

#### 2-Acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat

183 mg 2-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) wurden in 5,5 ml Acetanhydrid und 0,3 ml Pyridin gelöst und 65 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wurde mit sehr viel Wasser verdünnt und ausgeäthert. Die ätherische Phase wurde einmal mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers wurden 231 mg (fast quantitative Ausbeute) eines farblosen Kristallisates erhalten. Nach Umlösen aus Ätha-

nol war die Substanz identisch mit authentischem Material<sup>6</sup> in Schmelzpunkt,  $R_F$ -Wert, UV- und IR-Spektrum.

#### $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ ) (X)

Eine Lösung von 138 mg des Amins VIIa in 2,6 ml Tetrahydrofuran wurde mit 5,2 ml Wasser und 7,8 ml 1N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt und auf 0°C abgekühlt. Nach Zugabe von 72 mg festen Natriumnitrits wurde die gelbe Lösung 10 Min. gerührt, anschließend noch mit 48 mg Harnstoff in 3,6 ml Wasser versetzt, auf Raumtemperatur gebracht und nach Verdünnen mit weiteren 27 ml Wasser 10 Min. auf 80°C erwärmt. Nach Abkühlen wurde die Reaktionslösung zweimal ausgeäthert. Als Rückstand der vereinigten gewaschenen und getrockneten Extrakte wurde öliges  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ ) (X) mit dem  $R_F$ -Wert 0,69 (Essigester) erhalten.

#### $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ )-diacetat

Obiges Produkt (X) wurde durch Erhitzen mit 5 ml Acetanhydrid und 1 ml Pyridin (15 Min. auf dem siedenden Wasserbad) acetyliert. Das nach Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt ergab nach Chromatographie seiner Benzol-Lösung an Aluminiumoxid (neutral, Aktivitätsstufe III) 148 mg eines gelben Kristallisates, dieses nach Rechromatographie im gleichen System (aber Aktivitätsstufe II) 73 mg farbloses  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ )-diacetat (40% d. Th.), das noch einmal durch Chromatographie an Kieselgel (aufgeschlämmt in Benzin, Elution mit Chloroform) gereinigt wurde: Schmp. 138°C,  $R_F$  0,68 (Chloroform).

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_4$  (356,5) Ber.: C 74,13 H 7,91  
Gef.: C 75,84 H 8,02  
72,36 7,71

UV-Spektrum,  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ : in Äthanol 249 (237), 254,5 (314), 261 (365) und 267  $\text{m}\mu$  (277).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{\text{C=O}}$  5,68 und 5,76  $\mu$ ,  $\nu_{\text{O-C}}$  8,00 und 8,26  $\mu$ ,  $\nu_{\text{O-C}}$  9,58 und 9,80  $\mu$ ,  $\lambda \gamma$  12,77 und 13,87  $\mu$ .

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 356, ber. 356.

Verseifung: Eine Lösung von 32 mg des Diacetats in 11 ml Methanol wurde unter Stickstoff mit 83 mg festen Kaliumhydroxids versetzt, anschließend 40 Min. unter Stickstoff unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach Versetzen mit verd. Salzsäure wurde mit Äther ausgeschüttelt. Der Rückstand der neutral gewaschenen und getrockneten ätherischen Lösung wurde, in Essigester gelöst, an Kieselgel chromatographiert. Die Elution mit Essigester lieferte 22 mg reines  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ ) (X) vom Schmp. 191—192°C (Zers.),  $R_F$  0,69 (Essigester),  $[\alpha]_D^{29}$  +35° (Äthanol); (Ausbeute 36% d. Th. bezogen auf 4-Amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )).

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$  (272,4) Ber.: C 79,38 H 8,89  
Gef.: C 79,34 H 9,09

UV-Spektrum,  $\lambda_{\max}(\epsilon)$ : in Äthanol (220) (8900), 274 (1850) und 280  $m\mu$  (1770); in 0,1N NaOH (50% Äthanol) 242,5 (9250) und 291  $m\mu$  (3950).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{OH}$  2,83 (sehr scharf) und 3,04  $\mu$ ,  $\lambda_{\gamma}$  12,69 und 13,48  $\mu$ .

NMR-Spektrum ( $CDCl_3$ ): 18- $CH_3$  0,77 ppm (3) s; aromatische Protonen an C-1 6,88 ppm (1) q,  $J = 7$  Hz,  $J = 2$  Hz, an C-2 7,07 ppm (1) t,  $J = 7$  Hz, an C-3 6,62 ppm (1) q,  $J = 7$  Hz,  $J = 2$  Hz; 4-OH 6,50 ppm (1) s.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 272, ber. 272.

#### Oxydation von $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(4.17 $\beta$ )-diacetat

11 mg  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratrienol-(4.17 $\beta$ )-diacetat wurden bei 0°C mit einer Lösung von 10,8 mg Chromtrioxid in 0,2 ml Eisessig und 0,04 ml Wasser versetzt. Die entstandene Lösung wurde 22 Std. im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wurde mit 1 ml Methanol versetzt, nach weiteren 10 Min. wurde viel Wasser zugegeben und zweimal ausgeäthert. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit Wasser neutral gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet; sie enthielten ungefähr 15 mg Rohprodukt. Dieses wurde in 1,2 ml Eisessig und 1,2 ml Äthanol mit 38 mg GIRARDS Reagens T 1 Std. am Rückflußkühler gekocht. Danach wurde dreimal ausgeäthert, die wäßrige Phase filtriert, auf 1N an HCl eingestellt und nach 2 Std. bei 20°C viermal ausgeäthert; die vereinigten Ätherextrakte wurden mit Natriumcarbonatlösung und mit viel Wasser neutral gewaschen und getrocknet; ihr Rückstand bildete eine dünn-schichtchromatographisch einheitliche „Keton-Fraktion“ mit  $R_F$  0,72 in Chloroform. Nach 20 Min. Stehenlassen in äthanolischer Natronlauge war die Verseifung der Phenolester-Gruppierung vollständig.

UV-Spektrum (Phenolat-Ion)  $\lambda_{\max}(E)^*$  (237) (1,620), 265 (0,860) und 366  $m\mu$  (0,474); nach Ansäuern mit Salzsäure (Phenol): (232) (0,620), 249 (0,445) und 325  $m\mu$  (0,170). Da die langwelligen Banden mit denjenigen des *o*-Hydroxy-acetophenons und seines Phenolat-Ions übereinstimmen, so muß es sich bei dem Oxydationsprodukt um eine 6-Oxo- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratriendiol-(4.17 $\beta$ )-Verbindung handeln.

#### $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ ) (VIII)

Wie für die 4-Amino-Verb. VIIa angegeben, wurden 303 mg des 2-Amins V diazotiert und zum  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ ) (VIII) verkocht: Rohausbeute 284 mg (93% d. Th.) eines gelb gefärbten Präparates mit dem  $R_F$ -Wert 0,68 (Essigester), das weder durch Chromatographie an Aluminiumoxid noch durch Umlösen farblos erhalten werden konnte.

\* Ohne Einwaage gemessene Extinktionen.

#### $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ )-diacetat

Nach Acetylierung von VIII durch 35 Min. Erhitzen mit 46 ml Acetanhydrid und 5 ml Pyridin wurde das durch übliche Aufarbeitung erhaltene Acetylierungsprodukt in Benzol-Lösung an Aluminiumoxid (neutral, Aktivitätsstufe III) chromatographiert. Die Elution mit Benzol lieferte farbloses  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ )-diacetat vom Schmp. 159–161°C,  $R_F$  0,64 (Chloroform).

$C_{22}H_{28}O_4$  (356,5) Ber.: C 74,13 H 7,91  
Gef.: C 74,40 H 7,68

UV-Spektrum,  $\lambda_{\max}(\epsilon)$ : in Äthanol (216) (9420), (262) (640), 268,5 (870) und 275,5  $m\mu$  (830).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{C=O}$  5,68 und 5,80  $\mu$ ,  $\nu_{O-C}$  8,05 und 8,29  $\mu$ ,  $\nu_{O-C}$  9,56 und 9,84  $\mu$ ,  $\lambda_{\gamma}$  11,69 und 12,27  $\mu$ .

NMR-Spektrum ( $CCl_4$ ): 18- $CH_3$  0,84 ppm (3) s; 17 $\beta$ -O-CO- $CH_3$  2,00 ppm (3) s, 2-O-CO- $CH_3$  2,22 ppm (3) s; aromatische Protonen an C-1 6,90 (1) d,  $J = 2$  Hz, an C-3 6,73 ppm (1) q,  $J = 9$  Hz,  $J = 2$  Hz, und an C-4 6,95 ppm (1) d,  $J = 9$  Hz.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 356, ber. 356.

Verseifung: 168 mg des Diacetats wurden analog dem isomeren 4.17 $\beta$ -Diacetat durch Kochen in 30 ml Methanol mit 216 mg festem Kaliumhydroxid unter Stickstoff verseift. Die Chromatographie des Reaktionsproduktes in Essigester-Lösung an Kieselgel ergab bei der Elution mit Essigester in den Fraktionen 1 und 2 4 mg eines nur partiell verseiften Produktes (17-Monoacetat), in den Fraktionen 6–10 farbloses  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ ) (VIII) vom Schmp. 216–219°C, nach Umlösen aus Essigester Schmp. 220,5–222°C (Literatur Schmp. 222–224°C<sup>5</sup> bzw. 216°C<sup>6</sup>),  $R_F$  0,65 (Essigester).

UV-Spektrum,  $\lambda_{\max}(\epsilon)$ : in Äthanol 282 (2780) und (288)  $m\mu$  (2480); in 0,1N NaOH (50% Äthanol) 243 (9800) und 299  $m\mu$  (3550).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{OH}$  2,96 und 3,18  $\mu$ ,  $\lambda_{\gamma}$  11,61, 11,74 und 12,35  $\mu$ .

NMR-Spektrum (Hexadeuteroacetone): 18- $CH_3$  0,80 ppm (3) s; aromatische Protonen an Ring A an C-1 6,80 ppm (1) d,  $J = 2$  Hz, an C-3 6,61 ppm (1) q,  $J = 9$  Hz,  $J = 2$  Hz, und an C-4 6,85 ppm (1) d,  $J = 9$  Hz; 2-OH 7,95 ppm (1) s.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 272, ber. 272.

#### 2-Nitro-3-acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (XII)

Eine Lösung von 519 mg 3-Acetamino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (XI) in 6,2 ml Tetrachlorkohlenstoff und 7,5 ml Acetanhydrid wurde analog der Umsetzung von I (s. o.) nitriert. Die Chromatographie der Lösung des Reaktionsproduktes in Benzol an  $Al_2O_3$

(neutral, Aktivitätsstufe IV) ergab 223 mg XII (38% d. Th.); Schmp. nach Umlösen aus 90proz. Methanol 183,5–185°C,  $R_F$  0,68 (Chloroform).

$C_{22}H_{28}N_2O_5$  (400,5) Ber.: C 65,97 H 7,29  
Gef.: C 66,17 H 6,97

UV-Spektrum,  $\lambda_{max}(\epsilon)$ : in Äthanol 238,5 (18470), (245) (17700), 290 (5900) und 347 m $\mu$  (3140).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{NH}$  2,95  $\mu$ ,  $\nu_{C=O}$  5,76  $\mu$ , Amid I und II 5,83 und 6,33  $\mu$ ,  $\nu_{-NO_2}$  6,65 und 7,45  $\mu$ ,  $\lambda\gamma$  11,08 und 13,21  $\mu$ .

NMR-Spektrum ( $CCl_4$ ): 18- $CH_3$  0,82 ppm (3) s; 17 $\beta$ -O-CO- $CH_3$  2,01 ppm (3) s; 3-NH-CO- $CH_3$  2,21 ppm (3) s; aromatische Protonen 7,96 ppm (1) s und 8,43 ppm (1) s.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 400, ber. 400.

#### 2-Nitro- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (II)

Eine Lösung von 220 mg XII in 43 ml Äthanol wurde mit 8 ml konz. Salzsäure 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung lieferte 220 mg Hydrochlorid von 2-Nitro-3-amino- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ ) (XIII) als gelbes Öl, welches langsam durchkristallisierte.

UV-Spektrum:  $\lambda_{max}(\epsilon)$ : in 5N HCl 228 (8780) und 286 m $\mu$  (7250), in 2N NaOH (255) (5680), 296 (6500) und 423 m $\mu$  (4020).

IR-Spektrum (fest in KBr): breite Bande zwischen 2,8–3,2  $\mu$ ,  $\nu_{NO_2}$  6,72 und 7,63  $\mu$  (keine Carbonylbanden).

Das Hydrochlorid wurde durch Versetzen seiner äthanolischen Lösung mit konz. Ammoniak in das luft-, licht- und wärmeempfindliche freie Amin XIII über-

führt, welches sofort in 8 ml Eisessig gelöst wurde. Nach Versetzen mit 4 ml 5N HCl wurde bei  $-4^\circ C$  eine Lösung von 54 mg Natriumnitrit in 1,3 ml Wasser unter Rühren zur Diazotierung zugegeben (vorübergehende tiefe Rotfärbung). Nach 17 Min. wurden 61 mg Harnstoff, in 1 ml Wasser gelöst, hinzugegeben, nach weiteren 12 Min. 5,2 ml 60proz. hypophosphorige Säure. Die braune Lösung wurde noch 10 Min. gerührt, dann 37 Std. bei  $+4^\circ C$  im Dunkeln aufbewahrt. Die Aufarbeitung ergab nach Chromatographie des Reaktionsproduktes an Aluminiumoxid (neutral, Aktivitätsstufe III) und Elution mit Benzol 69 mg 2-Nitro- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 $\beta$ )-acetat (II) (36% d. Th. bezogen auf XII) in gelblichen Kristallen vom Schmp. 182–185°C,  $R_F$  0,70 (Chloroform).

UV-Spektrum,  $\lambda_{max}(\epsilon)$ : in Äthanol (222) (6600) und 282 m $\mu$  (6900); in 0,1N HCl (50% Äthanol) keine Verschiebung von Absorptionsbanden).

IR-Spektrum (fest in KBr):  $\nu_{C=O}$  5,79  $\mu$ ,  $\nu_{NO_2}$  6,62 und 7,45  $\mu$ ,  $\nu_{O-C}$  8,06  $\mu$ ,  $\nu_{O-C}$  9,61  $\mu$ ,  $\lambda\gamma$  11,11, 11,60, 12,39 und 13,51  $\mu$ .

NMR-Spektrum ( $CDCl_3$ ): 18- $CH_3$  0,83 ppm (3) s; 17 $\beta$ -O-CO- $CH_3$  2,07 ppm (3) s; aromatische Protonen an C-1 8,10 ppm (1) d,  $J = 2$  Hz, an C-3 7,88 ppm (1) q,  $J = 9$  Hz,  $J = 2$  Hz, und an C-4 7,07 ppm (1) d,  $J = 9$  Hz.

Massenspektrum (Elektronenenergie 70 eV): Molekulargewicht gef. 343, ber. 343.

Die Reduktion von II nach der für das Gemisch der Nitro-Verbindungen II, III und IV angegebenen Methode lieferte das 2-Amin V, dessen Diazotierung und Verkochung die Verbindung  $\Delta^{1.3.5(10)}$ -Östratriendiol-(2.17 $\beta$ ) (VIIa). Die physikalischen Daten dieser Präparate stimmten mit denen der oben beschriebenen überein.