

Darstellung biochemisch interessanter Thioäther der Östrogene, II¹

2-Methoxy-4-carboxymethylmercapto-östron-3-methyläther*

VON FRIEDRICH MARKS, ELLEN KUBINYI und ERICH HECKER

Aus dem Biochemischen Institut des Deutschen Krebsforschungszentrums, Heidelberg**

(Der Schriftleitung zugegangen am 17. Mai 1968)

Zusammenfassung: 2-Methoxy-4-carboxymethylmercapto-östron-3-methyläther wird durch Carboxymethylierung des 3-Methyläthers von 2-Methoxy-4-mercapto-17 β -östradiol mit Chloressigsäure und anschließende OPPENAUER-Oxydation dargestellt und als 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Methylesters charakterisiert.

Den 3-Methyläther des 2-Methoxy-4-mercapto-17 β -östradiols erhält man aus dem 3-Methyläther

von 2,4-Dinitro-17 β -östradiol durch katalytische Hydrierung der 2-Nitrogruppe, Umwandlung der entstandenen Aminogruppe in die Methoxygruppe durch Photolyse des Diazoniumsalzes und anschließende Methylierung, katalytische Hydrierung der 4-Nitrogruppe und Überführung der dabei gebildeten Aminogruppe in die Mercapto-Gruppe über das Diazoniumsalz mittels der Xanthogenatmethode.

Summary: *The preparation of biochemically interesting thioethers of oestrogens, II: 2-methoxy-4-(carboxymethylmercapto)oestrone-3-methyl ether.*

2-Methoxy-4-carboxymethylmercapto-oestrone-3-methyl ether was prepared by the carboxymethylation of the 3-methyl ether of 2-methoxy-4-mercapto-17 β -oestradiol with chloroacetic acid, followed by an OPPENAUER oxidation, and it was characterized as the 2,4-dinitrophenylhydrazone of the methyl ether.

The 3-methyl ether of 2-methoxy-4-mercapto-17 β -oestradiol was obtained from the 3-methyl ether of 2,4-dinitro-17 β -oestradiol by catalytic hydrogenation of the 2-nitro group, conversion of the resulting amino group into a methoxy group by photolysis of the diazonium salt and methylation, catalytic hydrogenation of the 4-nitro group and conversion of the resulting amino group into the mercapto group via the diazonium salt by the xanthogenate method.

Verschiedene Befunde deuten darauf hin, daß die bei der Inkubation von Östron mit Rattenlebermikrosomen in Gegenwart von cytoplasmatischem Überstand^{2,3}, Glutathion^{2,3} oder Thioglykolsäure² entstehenden wasserlöslichen Metaboliten aus dem intermediär in größerer Menge auftretenden

2-Hydroxy-östron gebildet werden^{4,5}. Wahrscheinlich wird dieses Stoffwechselprodukt zu einer reaktionsfähigen Verbindung oxidiert, die spontan mit Thiolen reagieren kann. Als ein derartig aktivierter Metabolit kommt in erster Linie ein *o*-Chinon (oder *o*-Semichinon) in Frage, welches Sulfhydrilverbindungen in Position 1 oder 4 addieren könnte. Über die Darstellung eines entsprechenden 4-Carboxymethyl-thioäthers aus 2,3-Dimethoxy- $\Delta^{1,3,5(10)}$ -östratrienon-(17) und Thioglykolsäure, der sich als Trägersubstanz im Isotopenexperiment verwenden läßt, wird im folgenden berichtet.

* Systemat. Name: 2,3-Dimethoxy-4-carboxymethylmercapto- $\Delta^{1,3,5(10)}$ -östratrienon-(17).

** Postanschrift: Prof. Dr. E. HECKER, D-69 Heidelberg, Berliner Straße 23.

¹ I. Mitteil.: F. MARKS u. E. HECKER, diese Z. **349**, 1208 [1968].

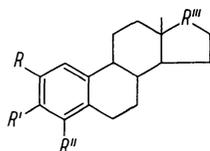
² E. HECKER, G. WALTER u. F. MARKS, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **111**, 546 [1965].

³ P. H. JELLINCK, C. LAZIER u. M. L. COPP, Canad. J. Biochem. **43**, 1774 [1965].

⁴ E. HECKER u. F. MARKS, Biochem. Z. **343**, 211 [1965].

⁵ F. MARKS u. E. HECKER, diese Z. **345**, 22 [1966].

2.3-Dimethoxy-4-alkylmercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratriene lassen sich durch Alkylierung von 2.3-Dimethoxy-4-mercapto-östrogenen in guter Ausbeute darstellen. Letztere erhält man — ausgehend von 2.3-Dimethoxy-4-amino-17 β -hydroxy-östratrien-



- I: R = R'' = NO₂, R' = OH, R''' = >CHOH
 II: R = R'' = NO₂, R' = OCH₃, R''' = >C=O
 III: R = R'' = NO₂, R' = OCH₃, R''' = >CHOAc
 IV: R = NH₂, R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >C=O
 V: R = R'' = NH₂, R' = OCH₃, R''' = >C=O
 VI: R = NH₂, R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >CHOH
 VII: R = OH, R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >CHOH
 VIII: R = OAc, R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >CHOAc
 IX: R = R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >CHOH
 X: R = R' = OCH₃, R'' = NO₂, R''' = >CHOAc
 XI: R = R' = OCH₃, R'' = NH₂, R''' = >CHOH
 XII: R = R' = OCH₃, R'' = SH, R''' = >CHOH
 XIII: R = R' = OCH₃, R'' = SAC, R''' = >CHOAc
 XIV: R = R' = OCH₃, R'' = S-CO-C₆H₄(*p*)-N=N-C₆H₄-NO₂(*p*), R''' = >CHOH
 XV: R = R' = OCH₃, R'' = S-CH₂-CO₂H, R''' = >CHOH
 XVI: R = R' = OCH₃, R'' = S-CH₂-CO₂H, R''' = >C=O
 XVII: R = R' = OCH₃, R'' = S-CH₂-CO₂CH₃, R''' = >C=N-NH-C₆H₃(NO₂)₂(*o,p*)
 XVIII: R = H, R' = OH, R'' = NO₂, R''' = >CHOH
 XIX: R = H, R' = -O-C₆H₃(*p*-NO₂, *o*-Bz), R'' = NO₂, R''' = >CHOH
 XX: R = H, R' = -O-C₆H₃(*p*-NO₂, *o*-Bz), R'' = NO₂, R''' = >CHOAc

nen — durch Umsetzung der entsprechenden Diazoniumsalze mit Kalium-äthylxanthogenat.

Im Gegensatz zu Östradiol-3-methyläther-17 β -acetat¹ läßt sich 2.3-Dimethoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) nicht sulfonieren; wahrscheinlich ist die Position 4 sterisch zu sehr abgeschirmt, denn auch aus Östradiol-3-methyläther-17 β -acetat entsteht praktisch nur die 2-Sulfonsäure¹. Die Darstellung von 2.3-Dimethoxy-4-mercapto-östratrienen über die 4-Sulfonsäuren scheidet daher aus.

Um 4-Amino-2.3-dimethoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (XI) zu erhalten, geht man vom 2.4-Dinitro-17 β -östradiol (I) oder 2.4-Dinitro-östron aus. Beide Verbindungen lassen sich — nach Methylierung der phenolischen Hydroxylgruppe — durch partielle katalytische Hydrierung in die entsprechenden 4-Nitro-2-amino-3-methoxy-östratriene (IV, VI) umwandeln. VI wird in Anlehnung an l.c.⁷ durch Photolyse seines Diazoniumsalzes in 4-Nitro-2.3-dimethoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (IX) übergeführt, welches sich quantitativ zur 4-Aminoverbindung (XI) reduzieren läßt.

Es gelang nicht, Verbindung IX in Anlehnung an die Vorschriften von FISHMAN⁶ und LOUDON et al.⁶ durch Hydroxylierung (und anschließende Methylierung) des 4-Nitro-17 β -acetoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrien-3-[(4-nitro-2-benzoyl)-phenyl]-äthers (XX) darzustellen; nach Behandlung von XX mit Wasserstoffperoxyd wurde stets nahezu ausschließlich Ausgangsmaterial zurückisoliert. Offenbar verhindert die Nitrogruppe in Steroidposition 4 die Ausbildung des als Zwischenprodukt postulierten Pyrylium-Ions.

4-Nitro-3-methoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratriendiol-(2.17 β) (VII) sowie 4-Nitro-2.3-dimethoxy- (IX) und 2.3-Dimethoxy-4-mercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (XII) sind Harze, welche nicht kristallisieren; sie können jedoch als gut kristallisierende Acetate (VIII, X, XIII) bzw. als *p*-Nitro-azobenzol-carbonsäureester (XIV) charakterisiert werden.

Die von Thioglykolsäure abgeleiteten Thioäther 2.3-Dimethoxy-4-carboxymethylmercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (XV) und -on-(17) (XVI) kristallisieren ebenfalls nicht. XVI wird als 2.4-Dinitrophenylhydrazon des Methylresters charakterisiert (XVII).

⁶ J. FISHMAN, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1213 [1958]; J. D. LOUDON, J. R. ROBERTSON, J. N. WATSON u. S. D. AITON, J. Chem. Soc. [London] **1950**, 55; J. D. LOUDON u. J. A. SCOTT, J. chem. Soc. [London] **1953**, 265.

⁷ J. DE JONGE u. R. DIJKSTRA, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **68**, 426 [1949]; **71**, 846 [1952]; St. KRAYCHY, J. Amer. chem. Soc. **81**, 1702 [1959].

Beschreibung der Versuche

Zur Messung von Schmelzpunkten und Spektren, Ausführung von Analysen sowie Säulen- und Schichtchromatographie vgl. I. c.¹.

2.4-Dinitro-östradiol-(17 β) (I): 1 g 2.4-Dinitro-östron⁴, 8 wird in 200 ml Methanol gelöst und zusammen mit 0,5 g fein gepulvertem Natriumborant 1–2 Std. lang auf 50°C erhitzt. Anschließend zersetzt man überschüssiges Reduktionsmittel mit 2–3 ml Eisessig und destilliert das Lösungsmittel im Vak. zu 80–90% ab. Der Rückstand wird mit Wasser verdünnt und gründlich mit Methylenchlorid extrahiert. Der Extrakt wird dreimal mit Wasser gewaschen, mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft. Man erhält orangefarbene Kristalle, die man aus Nitromethan umkristallisiert. Die Ausbeute ist quantitativ. Das Produkt ist in Methanol, Benzol und anderen organischen Lösungsmitteln relativ schwer löslich, löst sich aber in wäßriger Hydrogencarbonatlösung. Schmp. um 235°C (Zers.).

$C_{18}H_{22}N_2O_6$ (362,2) Ber. C 59,69 H 6,34 N 7,74
Gef. C 59,65 H 6,17 N 7,80

UV: λ_{max} 350, 276,5 m μ , ϵ_{max} 3680, 7420.

IR: $\bar{\nu}_{OH}$ 3560 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1520–1540 cm⁻¹.

2.4-Dinitro-östron-3-methyläther (II): 1,5 g 2.4-Dinitro-östron werden in 150 ml wasserfreiem Aceton gelöst und zusammen mit 20 g wasserfreiem Kaliumcarbonat und 15 ml Dimethylsulfat 6 Std. lang unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Zur Zerstörung von überschüssigem Dimethylsulfat gibt man anschließend 150 ml 10proz. Ammoniaklösung hinzu und erhitzt 15 Min. auf dem Wasserbad. Das Aceton wird im Vak. abdestilliert und der Rückstand mit Methylenchlorid extrahiert. Man wäscht den Extrakt mit Wasser neutral, trocknet mit Natriumsulfat und dampft ihn im Vak. ein. Das hellgelbe Rohprodukt wird aus Methanol umkristallisiert; man erhält fast farblose Schuppen, die bei 116–119°C schmelzen. Die Ausbeute beträgt 80–90% d. Th.

$C_{19}H_{22}N_2O_6$ (374,4) Ber. C 60,95 H 5,92 N 7,48
Gef. C 60,74 H 5,99 N 7,54

UV: λ_{max} 305, 257 m μ , ϵ_{max} 2400, 6460.

IR: $\bar{\nu}_{C=O}$ 1730 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1325–1345, 1515 bis 1540 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1270 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

3-Methyläther des 2.4-Dinitro-östradiol-17 β -acetats (III): Der 3-Methyläther des 2.4-Dinitro-östradiols-(17 β) wird auf analoge Weise und in gleicher Ausbeute wie II durch Methylierung von I erhalten. Die Verbindung ist ein gelbes Harz, das auch nach Chromatographie auf Kieselgel (+13% H₂O) mit Benzol, Benzol/Essigester 8:1,5:1,2:1 nicht kristallisiert. Es wird acetyliert, indem man es 24 Std. lang bei Raumtemperatur mit überschüssigem Acetanhydrid in Pyridin behandelt; der Reaktionsansatz wird in üblicher Weise aufgearbeitet.

⁸ H. WERBIN u. C. HOLOWAY, J. biol. Chemistry **223**, 651 [1956].

Der Rückstand kristallisiert mit Methanol. Blaßgelbe Kristalle, Schmp. 169–170°C (Methanol).

$C_{21}H_{26}N_2O_7$ (418,5) Ber. C 60,28 H 6,26 N 6,70
Gef. C 60,14 H 6,49 N 6,76

UV: λ_{max} 258,5, 310 m μ , ϵ_{max} 5560, 2030.

IR: $\bar{\nu}_{C=O}$ 1730 cm⁻¹ (Ester), $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1325–1370, 1515 bis 1540 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1275 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

4-Nitro-2-amino-3-methoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienon-(17) (IV): II wird in wenig Tetrahydrofuran gelöst und in Gegenwart von RANEY-Nickel bei Raumtemperatur bis zur Aufnahme von 3 Moläquivalenten Wasserstoff hydriert. Man filtriert den Katalysator ab und erhält beim Eindampfen des Filtrats ein gelbes Harz. Chromatographie auf Kieselgel mit Benzol und Benzol/Essigester 9:1, 8:1, 6:1, 4:1, 3:1 liefert nacheinander eine intensiv gelbe Substanz (Hauptmenge) und ein bräunliches Produkt (V, s. u.). Die gelbe Verbindung wird aus Methanol umkristallisiert. Man erhält Nadeln vom Schmp. 198–200°C. Die Ausbeute beträgt etwa 75% d. Th.

$C_{19}H_{24}N_2O_4$ (344,3) Ber. C 66,25 H 6,98 N 8,14
Gef. C 66,29 H 6,93 N 8,14

UV: λ_{max} 290,5 m μ , ϵ_{max} 2980.

IR: $\bar{\nu}_{NH_2}$ 3340, 3450 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C=O}$ 1730 cm⁻¹, δ_{NH_2} 1630 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1370, 1520 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1230 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

2.4-Diamino-3-methoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienon-(17) (V): V entsteht in geringer Ausbeute als Nebenprodukt bei der Darstellung von IV (s. o.) oder in quantitativer Ausbeute bei vollständiger katalytischer Hydrierung von II mit RANEY-Nickel bei Raumtemperatur. Aus Benzol beigefarbene Kristalle, Schmp. 206–209°C.

$C_{19}H_{26}N_2O_2$ (314,4) Ber. C 72,58 H 8,34 N 8,91
Gef. C 72,87 H 8,42 N 9,13

UV: λ_{max} 293 m μ , ϵ_{max} 1560 (Methylenchlorid).

IR: $\bar{\nu}_{NH_2}$ 3350, 3440 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C=O}$ 1725 cm⁻¹, δ_{NH_2} 1610 bis 1615 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1225 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

4-Nitro-2-amino-3-methoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (VI): VI wird auf analoge Weise und in gleicher Ausbeute wie IV aus dem 3-Methyläther des 2.4-Dinitro-östradiols-(17 β) erhalten. Es kann auch durch Reduktion von IV mit Natriumborant in quantitativer Ausbeute dargestellt werden, wobei man auf gleiche Weise wie bei der Darstellung von I vorgeht. Aus Nitromethan oder Benzol erhält man leuchtend gelbe Kristalle, die bei 198–200°C schmelzen.

$C_{19}H_{26}N_2O_4$ (346,4) Ber. C 65,87 H 7,57 N 8,09
Gef. C 65,86 H 7,60 N 8,38

UV: λ_{max} 291,5 m μ , ϵ_{max} 3120.

IR: $\bar{\nu}_{OH}$ 3400–3600 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{NH_2}$ 3390, 3480 cm⁻¹, δ_{NH_2} 1625 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1380, 1525 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1230 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

Die Struktur von VI wird durch Reduktion des entsprechenden Diazoniumsalzes zu 4-Nitro-östradiol-3-methyläther bewiesen: Man löst eine kleine Probe von VI in 10proz. Schwefelsäure und diazotiert bei 0°C. Die mit Harnstoff behandelte orangereute Diazoniumsalzlösung wird 30 Min. mit einem fünffachen Überschuß von Äthanol zum Sieden erhitzt. Dabei entsteht eine gelbe Lösung, die mit Wasser verdünnt und mit Hydrogencarbonat abgestumpft wird. Man extrahiert mit Chloroform; der mit Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Extrakt hinterläßt beim Eindampfen ein bräunliches Harz, welches mit Methanol kristallisiert. Hellgelbe Kristalle vom Schmp. 179 bis 180°C (Methanol). In Schmelzpunkt, chromatographischem Verhalten und spektroskopischen Daten erweist sich das Produkt als identisch mit dem 3-Methyläther des 4-Nitro-östradiols-(17 β)¹.

4-Nitro-3-methoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratriendiol-(2.17 β) (VII) und sein Diacetat (VIII): 1 g VI wird in 20 ml 20proz. Schwefelsäure fein verrieben, wobei eine fast farblose Suspension entsteht, die man bei 0°C tropfenweise unter Rühren mit einer Lösung von 250 mg Natriumnitrit in 2 ml Wasser versetzt. Man rührt bei 0–5°C, bis eine klare orangereute Lösung entstanden ist, und zerstört darauf überschüssige salpetrige Säure mit 1–2 ml 40proz. Harnstofflösung. Nach 10 Min. (0–5°C; Rühren) wird die Diazoniumsalzlösung in eine eiskalte Mischung aus 250 ml konz. Schwefelsäure und 250 ml Wasser eingerührt und unter ständigem Rühren bei –5 bis 0°C 3–4 Std. lang mit UV-Licht bestrahlt (Quecksilber-Hochdrucklampe Q81 der Firma Heraeus, Hanau; Abstand 5–10 cm). Dabei fällt unter Stickstoffentwicklung ein bräunlicher Niederschlag aus. Nach Beendigung der Reaktion verdünnt man den Ansatz mit 500 ml Eiswasser und stumpft ihn unter starker Eiskühlung mit konzentrierter Natronlauge und Hydrogencarbonat ab; die Mischung soll zum Schluß noch sauer sein, sie darf nicht alkalisch werden. Anschließend extrahiert man dreimal mit Essigester; der mit Wasser säurefrei gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Extrakt liefert beim Eindampfen ein braunes Harz, das — wie Dünnschichtchromatographie mit Essigester zeigt — überwiegend aus einer Substanz besteht. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel mit Essigester chromatographiert; man erhält 600–700 mg (60–70% d. Th.) eines gelben Harzes. Es kann durch präparative Schichtchromatographie im System Tetrachlorkohlenstoff/Essigester 1:1 weiter gereinigt werden, ist jedoch nicht zur Kristallisation zu bringen. Das IR-Spektrum zeigt u. a. Banden bei 3500–3700 cm⁻¹ (OH), 1530 cm⁻¹ (NO), 1380 cm⁻¹ (C–NO₂) und 1250 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

Zur Überführung in VIII wird VII in Pyridin gelöst und 16 Std. lang bei Raumtemperatur mit überschüss. *Acetanhydrid* behandelt. Bei anschließendem Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser fällt ein bräunlicher, kristalliner Niederschlag aus, den man absaugt und mit

Wasser wäscht. Umkristallisation aus Methanol liefert gelbliche Nadeln vom Schmp. 189–192°C.

C₂₃H₂₉NO₇ (431,5) Ber. C 64,02 H 6,77 N 3,25
Gef. C 63,67 H 7,04 N 3,54

UV: λ_{\max} 271 m μ , ϵ_{\max} 1685 m μ .

IR: $\bar{\nu}_{C=O}$ 1775 cm⁻¹ (Phenolester), $\bar{\nu}_{C-O}$ 1720 cm⁻¹ (Ester), $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1375, 1535 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1250 cm⁻¹ (Ar–OCH₃), $\bar{\nu}_{C-O}$ 1190 cm⁻¹ (Phenolacetat).

4-Nitro-2.3-dimethoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (IX) und sein Acetat (X): 1 g VII wird in 100 ml wasserfreiem Aceton gelöst; man gibt 10 g wasserfreies Kaliumcarbonat und 7 ml *Dimethylsulfat* hinzu und erhitzt die Mischung 5–6 Std. lang unter Rückfluß zum Sieden. Danach arbeitet man in gleicher Weise wie bei der Darstellung von II auf. Man erhält ein bräunliches Harz, das sich durch Dünnschichtchromatographie im System Tetrachlorkohlenstoff/Essigester 1:1 als nahezu einheitlich erweist; das Produkt hat fast den gleichen R_F -Wert wie VII, löst sich jedoch im Gegensatz zu VII nicht in Alkaliläugen. Die Ausbeute beträgt durchschnittlich 80%. Die Verbindung kann durch präparative Schichtchromatographie mit Essigester weiter gereinigt werden; man erhält ein gelbes Harz, das nicht kristallisiert. Das IR-Spektrum zeigt u. a. Banden bei 3300–3600 cm⁻¹ (OH), 1525 cm⁻¹ (NO), 1375 cm⁻¹ (C–NO₂) und mehrere Banden im Bereich von 1250 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

16stdg. Behandlung des Harzes mit *Acetanhydrid* in Pyridin bei Raumtemperatur führt zum Acetat (X). Man gießt das Reaktionsgemisch in Wasser und extrahiert mit Chloroform. Der gründlich mit Wasser gewaschene und getrocknete Extrakt hinterläßt beim Eindampfen ein gelbliches Öl, das mit Methanol kristallisiert. Schwach gelbe Kristalle, die sich am Licht intensiv gelb färben; Schmp. 205–207°C (Methanol).

C₂₂H₂₉NO₆ (403,5) Ber. C 65,49 H 7,24 N 3,47
Gef. C 65,71 H 7,33 N 3,70

UV: λ_{\max} (220), 272,5 m μ , ϵ_{\max} (12130), 2740.

IR: $\bar{\nu}_{C=O}$ 1725 cm⁻¹ (Ester), $\bar{\nu}_{NO_2}$ 1375, 1530 cm⁻¹, $\bar{\nu}_{C-O}$ 1250 cm⁻¹ (Ar–OCH₃).

4-Amino-2.3-dimethoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (XI): IX wird in möglichst wenig Äthanol gelöst und mit RANEY-Nickel bei Zimmertemperatur bis zum Ende der Wasserstoffaufnahme hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Abdestillieren des Lösungsmittels bleibt ein bräunliches Harz zurück, das beim Verreiben mit Äther kristallisiert. Das Produkt hat dünnschichtchromatographisch (Tetrachlorkohlenstoff/Essigester 1:1) nahezu den gleichen R_F -Wert wie IX, löst sich aber im Gegensatz zu diesem in verdünnter Salzsäure. Die Ausbeute ist praktisch quantitativ. Aus Essigester erhält man sandfarbene Kristalle, die bei 193–195°C schmelzen.

C₂₀H₂₉NO₃ (331,5) Ber. C 72,47 H 8,82 N 4,23
Gef. C 72,28 H 8,63 N 4,39

UV: λ_{\max} 283 m μ , ϵ_{\max} 1310.

IR: $\bar{\nu}_{\text{NH}_2}$ 3350, 3450 cm $^{-1}$, δ_{NH_2} 1600–1615 cm $^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{C-O}}$ 1230 cm $^{-1}$ (Ar–OCH $_3$).

2.3-Dimethoxy-4-mercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol-(17 β) (XII) und Derivate (XIII und XIV): 400 mg XI werden in 3 ml Wasser + 0,1 ml konz. Schwefelsäure gelöst und bei 0°C tropfenweise und unter ständigem Rühren mit einer Lösung von 90 mg Natriumnitrit in 1 ml Wasser versetzt. Man rührt solange, bis eine klare orangefarbene Lösung entstanden ist; überschüssige salpetrige Säure wird mit einigen Tropfen 40proz. Harnstofflösung zerstört. Die Diazoniumsalzlösung wird mit festem Natriumacetat abgestumpft und bei 0°C rasch in eine Lösung von 450 mg Kalium-äthylxanthogenat in 1,5 ml Wasser eingerührt, wobei ein gelber Niederschlag entsteht. Man erwärmt die Suspension unter Rühren und Einleiten von Stickstoff im Wasserbad langsam auf 70–80°C (Abzug!); dabei scheidet sich unter starker Gasentwicklung ein zähes braunes Harz ab. Nachdem die Temperatur 30 Min. lang auf 80°C gehalten wurde, läßt man abkühlen und extrahiert den Reaktionsansatz dreimal mit Essigester. Der mit Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Extrakt wird im Vak. eingedampft, wobei ein braunes Harz zurückbleibt. Das Produkt wird 2 Std. lang zusammen mit 150 mg Kaliumhydroxyd, 3 ml Äthanol und einer Spatelspitze Glucose unter Stickstoff zum Sieden erhitzt. Die abgekühlte Mischung säuert man mit verdünnter Schwefelsäure an, setzt etwas Zinkstaub hinzu und erwärmt 20 Min. auf dem Wasserbad. Nach dem Abkühlen wird mit Methylchlorid extrahiert, der Extrakt mit Wasser säurefrei gewaschen, getrocknet und im Vak. eingedampft. Man erhält ein bräunliches Harz, das auf Kieselgel mit Benzol/Essigester 1:1 chromatographiert wird. Die Hauptbande liefert ein schwach gelbes Harz, das nicht kristallisiert. Die Ausbeute beträgt etwa 65% d. Th. Das IR-Spektrum zeigt u. a. folgende Banden: 3300–3500 cm $^{-1}$ (OH), 2580 cm $^{-1}$ (SH), mehrere Banden im Bereich von 1250 cm $^{-1}$ (Ar–OCH $_3$).

Zur Überführung in **2.3-Dimethoxy-17 β -acetoxy-4-acetylmercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienol (XIII)** wird XII 3 Tage bei Raumtemperatur mit überschüssigem Acetanhydrid in Pyridin behandelt. Anschließend wird das Gemisch in Wasser gegossen; dabei scheidet sich ein farbloses Harz ab, das in Chloroform aufgenommen wird. Beim Eindampfen des gründlich mit Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Extraktes bleibt ein farbloses Öl zurück, das mit Methanol kristallisiert. Das Produkt wird durch präparative Schichtchromatographie im System B (R_F ca. 0,7) gereinigt und aus Methanol umkristallisiert. Man erhält farblose Nadeln vom Schmp. 143–144°C.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{S}$ (422,6) Ber. C 66,64 H 7,46 S 7,41
Gef. C 66,57 H 7,41 S 7,54

UV: λ_{\max} 291,5 m μ , ϵ_{\max} 4270.

IR: $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1705, 1730 cm $^{-1}$ (Ester), $\bar{\nu}_{\text{C-O}}$ 1240–1260 cm $^{-1}$ (Ar–OCH $_3$).

Es wurde ferner versucht, XII als *p*-Nitro-azobenzol-carbonsäureester zu charakterisieren. Zu diesem Zweck behandelt man das Thiol 24 Std. lang bei Raumtemperatur mit einem Überschuß von *p*-Nitro-azobenzol-carbonsäurechlorid⁹ (Firma Merck AG, Darmstadt) in Benzol/Pyridin 1:1. Anschließend schüttelt man den Ansatz mit verdünnter Schwefelsäure aus und nimmt ihn dann in Methylchlorid auf. Die Lösung wird mit Wasser säurefrei gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft. Der rote Rückstand wird durch präparative Schichtchromatographie im System B gereinigt. Die Hauptbande liefert rote Kristalle, die aus 80proz. Äthanol und aus absol. Äthanol umkristallisiert werden. Schmp. 124–126°C. Die Analyse zeigt, daß ein Monoester entstanden ist; die Lage der Estercarbonyl-Bande im IR-Spektrum deutet darauf hin, daß nur die SH-Gruppe, nicht aber die 17 β -Hydroxylgruppe verestert worden ist.

$\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ (601,7) Ber. C 65,95 H 5,87 N 6,99 S 5,34
Gef. C 65,27 H 7,03 N 7,03 S 5,25

Diester:

$\text{C}_{46}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$ (854,9) Ber. C 64,62 H 4,95 N 9,88 S 3,75
UV: λ_{\max} 337 m μ , ϵ_{\max} 19110.

IR: $\bar{\nu}_{\text{OH}}$ 3300–3500 cm $^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{NO}_2}$ 1340, 1720 cm $^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1665 cm $^{-1}$ (Ester).

2.3-Dimethoxy-4-carboxymethylmercapto-östratrienol-(17 β) (XV): 200 mg XII werden in 5 ml methanol. Kalilauge gelöst und zusammen mit 400 mg Natriumchloracetat 1 Std. lang unter Stickstoff zum Sieden erhitzt. Danach läßt man abkühlen, säuert mit verdünnter Schwefelsäure an und extrahiert gründlich mit Chloroform. Nach dem Eindampfen erhält man ein gelbliches Harz. Die sehr polare Verbindung (R_F 0,0–0,2, Dünnschichtchromatographie, System Essigester/Tetrachlorkohlenstoff 1:1) kristallisiert auch nach schichtchromatographischer Reinigung im System D¹ nicht. Das IR-Spektrum zeigt Banden bei 3300–3600 (OH) und 1710 cm $^{-1}$ (Carboxylgruppe).

2.3-Dimethoxy-4-carboxymethylmercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrienon-(17) (XVI): XV wird in überschüssigem, frisch dest. Cyclohexanon gelöst und zusammen mit überschüssigem, fein gepulvertem Aluminium-isopropylat 8 Std. lang unter Feuchtigkeitsausschluß zum Sieden erhitzt. Anschließend destilliert man das Lösungsmittel mit Wasserdampf ab, säuert den Rückstand stark mit verdünnter Schwefelsäure an und extrahiert ihn mit Chloroform. Der mit Wasser säurefrei gewaschene Extrakt wird im Vak. eingedampft und anschließend in verd. Hydrogencarbonatlösung aufgenommen. Man wäscht zunächst dreimal mit Benzol, das verworfen wird, säuert dann die wäßrige Phase mit verdünnter Salzsäure an und extrahiert gründlich mit Chloroform. Der Extrakt wird mit Wasser säurefrei gewaschen, mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft. Es bleibt ein dünnschichtchromatographisch

⁹ E. HECKER, Chem. Ber. **88**, 1666 [1955].

nicht einheitliches Harz zurück, das man erneut 8 Std. lang mit Cyclohexanon/Aluminium-isopropylat behandelt, um vollständige Oxydation zu erreichen; den Reaktionsansatz arbeitet man wie oben beschrieben auf. Dünnschichtchromatographie im System D zeigt, daß danach praktisch das gesamte Ausgangsmaterial in eine einheitliche Substanz übergeführt worden ist. Das Präparat kristallisiert auch nach Reinigung durch präparative Schichtchromatographie im System D nicht (farbloses Harz). Das IR-Spektrum zeigt Banden bei 1730 cm^{-1} (Fünfringketon) mit einer Schulter bei 1705 cm^{-1} (Carboxylgruppe).

2.3-Dimethoxy-4-methoxycarbonylmethylmercapto- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrien-17-[2.4-dinitro-phenylhydrazon] (XVII): XVI wird in wenig Äther/Benzol 1:1 verrührt und 10 Min. lang bei 0°C mit überschüssigem Diazomethan in Äther behandelt. Anschließend setzt man einige Tropfen Essigsäure zu und dampft im Vak. ein. Das zurückbleibende gelbliche Harz wird durch präparative Schichtchromatographie im System Tetrachlorkohlenstoff/Essigester gereinigt (R_F ca. 0,6, R_F von XVI 0,0). Es konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden. Man löst es in möglichst wenig Äthanol und gibt 0,3 ml einer Lösung von 2.4-Dinitro-phenylhydrazin in Diäthylenglykol¹⁰ hinzu. Nach Zusatz von 3 bis 5 Tropfen Salzsäure wartet man einige Minuten und tropft dann vorsichtig Wasser hinzu, bis gerade eine Trübung erscheint. 1 Std. später wird viel Wasser zugesetzt und mit Methylenechlorid ausgeschüttelt. Den Extrakt wäscht man mit verd. Salzsäure, Wasser, verdünnter Hydrogencarbonatlösung und Wasser, trocknet ihn mit Natriumsulfat und dampft ihn im Vak. ein. Der Rückstand wird einer präparativen Schichtchromatographie im System Tetrachlorkohlenstoff/Essigester 5:1 unterworfen. Die gelbe Hauptbande (R_F ca. 0.7) wird mit Chloroform vom Adsorbens gewaschen. Das Filtrat schüttelt man gründlich mit Wasser aus, trocknet es mit Natriumsulfat und dampft es im Vak. ein. Man erhält einen gelben, kristallinen Rückstand, der aus Essigester umkristallisiert wird. Intensiv gelbe Kristalle, Schmp. $186-189^\circ\text{C}$.

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$ (598,7) Ber. C 58,18 H 5,73 S 5,36
Gef. C 57,93 H 5,44 S 5,28

UV: λ_{max} 265, 302 m μ , ϵ_{max} 5820, 5430.
IR: $\bar{\nu}_{\text{NH}_2}$ 3300 cm^{-1} , $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1725 cm^{-1} , $\bar{\nu}_{\text{C=N}}$ 1610 cm^{-1} ,
 $\bar{\nu}_{\text{NO}_2}$ $1325, 1580\text{ cm}^{-1}$.

4-Nitro-östradiol-(17 β) (XVIII): 2,3 g 4-Nitro-östron^{4,8} werden in 500 ml Methanol suspendiert und mit 2,0 g Natriumborant 2 Std. lang auf 50°C erwärmt. Anschließend säuert man mit etwas Eisessig an, verdünnt mit 100 ml Wasser und destilliert das Methanol im Vak. ab. Dabei fällt ein gelber kristalliner Niederschlag aus, den man abfiltriert und gründlich mit Wasser wäscht.

¹⁰ R. L. SHRINER, R. C. FUSON, D. Y. CURTIN, The Systematic Identification of Organic Compounds, S. 254, 5th Ed. J. Wiley & Sons, Inc., New York 1964.

Er wird im Vak. getrocknet und aus Essigester/Nitromethan 1:1 umkristallisiert. Gelbe Kristalle; Schmp. $245-250^\circ\text{C}$ (Zers.). Die Ausbeute ist quantitativ.

$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (317,2) Ber. C 68,16 H 7,25 N 4,42
Gef. C 68,43 H 7,55 N 4,62

UV: λ_{max} 275,5 m μ , ϵ_{max} 1905.

IR: $\bar{\nu}_{\text{OH}}$ $3550, 3100-3300\text{ cm}^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{NO}_2}$ $1370, 1575\text{ cm}^{-1}$.

4-Nitro-17-hydroxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrien-3-[4-nitro-2-benzoyl-phenyl]-äther (XIX): 315 mg (1 mMol) XVIII werden mit 50 mg KOH in 1 ml Äthanol + 1 Tropfen Wasser verrieben, wobei sich unter Erwärmen das rote Phenolat bildet. Man dampft im Vak. zur Trockene ein, setzt 251 mg (1 mMol) 2-Chlor-5-nitro-benzophenon¹¹ und etwas Kupferpulver hinzu und erhitzt das Gemisch mit 10 ml Dimethylformamid unter Rückfluß. Dabei färbt sich die zuvor rote Lösung braungelb und KCl fällt aus. Nach 1 Std. läßt man abkühlen, säuert mit verdünnter Schwefelsäure an und extrahiert mit Methylenechlorid. Der Extrakt wird mit Wasser, Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft. Das braune Harz wird auf Kieselgel (+ 13% Wasser) mit Benzol, Benzol/Essigester 4:1, 3:1, 2:1 und 1:1 chromatographiert. Man eluiert zuerst etwas 2-Chlor-5-nitro-benzophenon, dann das gewünschte Produkt XIX und schließlich eine kleine Menge Ausgangsprodukt. XIX ist ein gelbes Harz, das beim Erwärmen mit Methanol kristallisiert. Die Ausbeute beträgt durchschnittlich 70–80% d. Th. Aus Methanol hellgelbe Kristalle, Schmp. $130-135^\circ\text{C}$.

$\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7$ (542,6) Ber. C 68,62 H 5,57 N 5,16
Gef. C 68,37 H 5,54 N 5,18

UV: λ_{max} 256 und 285 m μ , ϵ_{max} 21020 und 14470.

IR: $\bar{\nu}_{\text{OH}}$ $3300-3500\text{ cm}^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1660 cm^{-1} (Diarylketon), $\bar{\nu}_{\text{NO}_2}$ $1345, 1530\text{ cm}^{-1}$, $\bar{\nu}_{\text{C-O}}$ 1260 cm^{-1} (Ar-OCH₃).

4-Nitro-17 β -acetoxy- $\Delta^{1.3.5(10)}$ -östratrien-3-[4-nitro-2-benzoyl-phenyl]-äther (XX): Man löst XIX in Pyridin und behandelt es 16 Std. lang mit überschüssigem Acetanhydrid. Danach wird die Mischung in viel Wasser gegossen, wobei ein gelblicher Niederschlag ausfällt. Er wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Methanol/Benzol 4:1 umkristallisiert. Man erhält fast farblose Nadeln, die bei $203-207^\circ\text{C}$ schmelzen. Die Ausbeute beträgt 90% d. Th.

$\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$ (584,6) Ber. C 67,80 H 5,52 N 4,79
Gef. C 68,10 H 5,58 N 4,94

UV: λ_{max} 256, 285 m μ , ϵ_{max} 20350, 14980.

IR: Das Spektrum entspricht dem von XIX, es fehlt jedoch die OH-Bande, dafür erscheint eine Ester-carbonylbande bei 1735 cm^{-1} .

¹¹ K. FRIES, Liebigs Ann. Chem. **454**, 121 [1927], u. zwar S. 287.