

*pour l'ozone*, des constantes d'équilibre déduites, comme précédemment, de l'équation approchée de *Nernst*, mais en utilisant une valeur plus exacte de la chaleur de formation de la molécule d'oxygène à partir des atomes,

*pour l'oxyde d'azote*

1<sup>o</sup> de l'équation approchée de *Nernst* mais avec des valeurs plus exactes des chaleurs de formation de O<sub>2</sub> et de N<sub>2</sub> à partir des atomes,

2<sup>o</sup> des constantes d'équilibre déduites de formules plus complètes.

Les nouvelles valeurs trouvées pour les pressions partielles maxima de l'ozone et de l'oxyde d'azote et pour les températures qui leur correspondent, sont inférieures à celles que nous avons calculées auparavant, en sorte que les conclusions développées dans le mémoire précédent se trouvent encore renforcées.

Genève, Laboratoire de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie, octobre 1935.

---

### 185. Sexualhormone VIII<sup>1)</sup>.

#### Darstellung von Testosteron unter Anwendung gemischter Ester

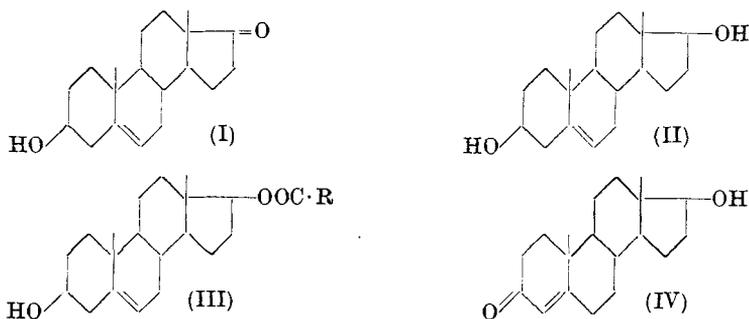
von L. Ruzicka, A. Wettstein und H. Kägi.

(2. XI. 35.)

In unserer letzten Abhandlung<sup>1)</sup> beschrieben wir die Darstellung von Testosteron (IV), wobei das Diacetat des trans-Androsten-3,17-diols (II) partiell zum 17-Monoacetat (III) verseift wurde. Danach oxydierte man das Dibromid des letzteren zur 3-Ketoverbindung, entbromte letztere und verseifte dann vollständig. Der Hauptnachteil dieser Methode liegt darin, dass der Unterschied in der Verseifbarkeit der beiden Acetatgruppen nicht gross genug ist für die Erzielung einer guten Ausbeute an Monoester 17. Es wurde daher versucht, die Ausbeute an letzterem dadurch zu erhöhen, dass man bei der partiellen Verseifung von gemischten Diestern ausgeht, die in der 3-Stellung eine an sich leichter verseifbare Estergruppe aufweisen als in der Stellung 17. Zu gemischten Estern mit den gewünschten Eigenschaften kann man nun kommen, wenn Ester des trans-Dehydro-androsterons (I) in erster Reaktion an der Ketogruppe reduziert werden ohne Angriff der Doppelbindung und der vorhandenen Estergruppe. Das Arbeiten mit Natrium und Alkohol spaltet aber bekanntlich die Esterbindung auf, kommt also hier nicht in Frage, und bei der katalytischen Hydrierung hätte

<sup>1)</sup> Helv. 18, 1264 (1935).

man im allgemeinen Wasserstoffanlagerung an die Kohlenstoffdoppelbindung erwartet. Nun lässt sich aber, wie schon in unserer letzten Mitteilung<sup>1)</sup> angeführt worden ist, sowohl trans-Dehydroandrosteron wie sein Acetat in alkoholischer Lösung in Anwesenheit von Nickelkatalysator selektiv nur an der Ketogruppe reduzieren.



Verestert man jetzt das so gewonnene 3-Acetat in 17-Stellung mit einer geeigneten Säure, z. B. Benzoesäure, so ist der Unterschied in der Verseifbarkeit der Estergruppen durch die Verschiedenartigkeit der Acylreste so weit gesteigert, dass man in sehr guter Ausbeute zum 17-Monobenzoat (III) gelangt, wenn man das 3-Acetat-17-benzoat partiell verseift. Dabei wurde noch die Beobachtung gemacht, dass in Alkoholen als Lösungsmittel das Alkali nur zu einem kleinen Teil zur Verseifung verbraucht wird, hauptsächlich aber als Katalysator eine Umesterung an der reaktionsfähigeren Stellung 3 bewirkt unter Entstehung der Verbindung III und des Essigsäure-esters des als Lösungsmittel angewandten Alkohols.

Das 17-Benzoat wurde genau so, wie wir es beim entsprechenden 17-Monoacetat beschrieben haben, weiter verarbeitet. Nach Addition von Brom und Oxydation mit Chromsäure in der Kälte, gefolgt von Entbromung mittels Natriumjodid oder Zink wurde das Testosteron-benzoat erhalten, das sich mit dem durch Benzoylierung von Testosteron erhaltenen Präparat als identisch erwies. Der Ester liefert bei der alkalischen Verseifung mit methylalkoholischer Lauge reines Testosteron (IV). *Dieses wichtige Hormon ist somit zu einer, ausgehend von Cholesterin, bequem zugänglichen Verbindung geworden, wodurch jetzt die eingehende Untersuchung seiner physiologischen Eigenschaften bei Tier und Mensch ermöglicht wird.*

Da somit die Erforschung des Testikelhormons zu einem gewissen Abschluss gekommen ist, möchten wir die grundlegenden Beobachtungen chronologisch zusammenstellen, die *in logischer Folge* zu diesem Ziele geführt haben:

<sup>2)</sup> Helv. 18, 1273 (1935).

1. Feststellung der *Alkaliempfindlichkeit* des wirksamen Prinzips von Testikelextrakten durch *Gallagher* und *Koch*<sup>1)</sup>, sowie der Alkali- und Permanganatempfindlichkeit durch *Matsuzaki Kwanji*<sup>2)</sup>.

2. a) *Isolierung* des reinen Testikelhormons durch *David*, *Dingemanse*, *Freud* und *Laqueur*<sup>3)</sup> und gleichzeitig

2. b) Aufstellung der *Arbeitshypothese* durch *Ruzicka* und *Wettstein*<sup>4)</sup>, dass die  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Ketoverbindungen Androsten-3,17-dion oder Androsten-3-on-17-ol in den Testikeln anwesend sein könnten. Herstellung des Androsten-3,17-dions ausgehend von Cholesterin.

3. Feststellung der *testikelhormonähnlichen physiologischen Eigenschaften des Androsten-3,17-dions* durch *Tschopp*<sup>5)</sup>.

4. *Oxydation des Testosterons zu Androsten-3,17-dion* durch *David*<sup>6)</sup>.

5. Bestätigung der daraus sich ergebenden Konsequenz der Identität von Testosteron mit Androsten-3-on-17-ol durch *künstliche Herstellung* des letzteren von *Ruzicka* und *Wettstein*<sup>7)</sup> aus Cholesterin.

Die männliche Hormonwirkung des Testikelextraktes scheint allerdings durch die Anwesenheit des Testosteron noch keine vollständige Erklärung zu finden. *David*, *Dingemanse*, *Freud* und *Laqueur*<sup>3)</sup> hatten angegeben, dass die Wirksamkeit des reinen natürlichen Testosterons im Rattentest durch Zusatz eines aus Testikelextrakt gewonnenen, für sich allein physiologisch inerten „x-Stoffes“ gesteigert werden kann. Bei ihren Versuchen arbeiteten diese Forscher mit recht geringen Gesamtdosen an Testosteron und erzielten Samenblasengewichte von 10 mg (ohne „x-Stoff“) bzw. 24 mg (mit „x-Stoff“), ohne das Kontrollgewicht der Samenblase anzugeben. Auf Grund der wesentlich stärkeren Effekte, die *Tschopp* allerdings unter Anwendung höherer Dosen erzielte, äusserten wir<sup>7)</sup> die Vermutung, dass die steigernde Wirkung des „x-Stoffes“ noch nicht erwiesen sei. Zur Kontrolle hat *Tschopp* die Wirkung von synthetischem Testosteron in Gegenwart des in lebenswürdiger Weise von Prof. *Laqueur* zur Verfügung gestellten „x-Stoffes“ nachgeprüft und eine deutlich stärkere Zunahme des Gewichtes der Sexualdrüsen kastrierter Ratten festgestellt als in den Kontrollversuchen. In ähnlicher Weise wird die Wirkung des Testosterons auch von nicht besonders angereichertem „x-Stoff“ beeinflusst. So zeigt z. B. das Handelspräparat „Androstin Ciba“ nach Zusatz von künstlichem

<sup>1)</sup> *Endocrinology* **18**, 107 (1934).

<sup>2)</sup> *Mitt. med. Ges. Tokyo* **48**, 1515 (1934).

<sup>3)</sup> *Z. physiol. Ch.* **233**, 281 (1935).

<sup>4)</sup> *Helv.* **18**, 990 (1935).

<sup>5)</sup> *Nature* **136**, 258 (1935).

<sup>6)</sup> *Acta brevia Neerland.* **5**, 85, 108 (1935).

<sup>7)</sup> *Helv.* **18**, 1264 (1935); obiger Arbeitshypothese folgend konnten auch *Butenandt* und *Hanisch*, *B.* **68**, 1859 (1935), in der gleichen Weise Testosteron bereiten.

Testosteron eine stärkere Wirksamkeit im Rattentest als der blossen Summierung der beiden Komponenten entsprechen würde<sup>1)</sup>. Es scheint also tatsächlich ein Aktivator des Testosterons in Organextrakten enthalten zu sein.

### Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

#### *Δ<sup>5,6</sup>-trans-Androsten-3,17-diol-3-acetat-17-benzoat.*

10 g trans-Androsten-3,17-diol-3-monoacetat<sup>3)</sup> wurden in 50 g wasserfreiem Pyridin gelöst und mit 10 g Benzoylchlorid versetzt. Nach dem Stehen über Nacht schüttelte man kräftig mit Wasser und Äther. Die ätherische Lösung wurde mit Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels krystallisierte der Rückstand vollständig. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol wurde das Acetat-benzoat in Form glänzender bei 180—182° schmelzender Blättchen erhalten, die in Alkohol und in Äther sehr schwer löslich sind.

4,056 mg Subst. gaben 11,45 mg CO<sub>2</sub> und 2,96 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{28}H_{36}O_4$  Ber. C 77,01 H 8,32%  
 Gef. „ 77,00 „ 8,16%

#### *Δ<sup>5,6</sup>-trans-Androsten-3,17-diol-17-benzoat.*

10,0 g trans-Androsten-diol-3-acetat-17-benzoat in 2 Liter Methanol wurden bei Zimmertemperatur unter Rühren mit 0,8 Mol methylalkoholischer Kalilauge und nach 18 Stunden nochmals mit 0,2 Mol Lauge versetzt und das Ganze noch weitere 32 Stunden gerührt. Dann neutralisierte man mit verdünnter Salzsäure und stellte dabei einen Laugenverbrauch von etwa 10% fest. Die neutrale Lösung wurde auf 200 cm<sup>3</sup> eingengt, in 2 Liter Wasser gegossen und mit Äther ausgezogen. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung lieferte einen Rückstand, der nach einmaliger Umkrystallisation aus Isopropyläther in Form von Nadeln vom Smp. 220,5 bis 222° erhalten wurde, welche sich als reines *Δ<sup>5,6</sup>-trans-Androsten-3,17-diol-17-benzoat* erwiesen.

3,897 mg Subst. gaben 11,33 mg CO<sub>2</sub> und 3,05 mg H<sub>2</sub>O  
 3,318 mg Subst. gaben 9,64 mg CO<sub>2</sub> und 2,62 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{28}H_{34}O_3$  Ber. C 79,13 H 8,69%  
 Gef. „ 79,29; 79,24 „ 8,76; 8,84%.

In äthylalkoholischer Lösung verläuft diese partielle Verseifung ungefähr sechsmal rascher.

<sup>1)</sup> Genauere Zahlen wird *Tschopp* später mitteilen, da die Versuche zunächst unter genau eingehaltenen Bedingungen wiederholt werden müssen. Vergl. über die starke Abhängigkeit des Rattentests von verschiedenen Bedingungen *Helv.* **18**, 1491 (1935), sowie die dort erwähnte ausführliche, im Druck sich befindende Publikation von *Tschopp* in *Arch. internat. Pharmacodyn. et Thérapie*.

<sup>2)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>3)</sup> *Helv.* **18**, 1273 (1935).

$\Delta^{4,5}$ -Androsten-3-on-17-ol-benzoat (Testosteron-benzoat).

10,27 g trans-Androsten-diol-17-benzoat in 400 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden bei 10° tropfenweise mit einer Lösung von 4,17 g Brom in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt, wobei immer sofort Entfärbung eintrat und bisweilen glänzende Blättchen von Dibromid ausfielen. Dann gab man weiter eine Lösung von 2,57 g Chromtrioxyd in 30 cm<sup>3</sup> 90-proz. Essigsäure zu, liess das Ganze 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, goss die Reaktionslösung in Wasser, saugte das gebromte Keton ab und wusch mit Wasser nach.

Zur Entbromung<sup>1)</sup> wurde das fast farblose Produkt in 200 cm<sup>3</sup> Benzol aufgenommen, die Lösung sorgfältig getrocknet und nach Zugabe von 75 cm<sup>3</sup> einer 20-proz. Lösung von Natriumjodid in absolutem Alkohol 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nun goss man in 500 cm<sup>3</sup> 2-proz. Natriumsulfitlösung, trennte die Schichten, schüttelte die Benzollösung weiter mit wässriger Natriumsulfit- und Bicarbonatlösung und schliesslich mit Wasser, trocknete sie und dampfte im Vakuum ein.

Das erhaltene Rohprodukt wurde im Hochvakuum (0,0003 mm) sublimiert, wo es bei 170° rasch übergeht, und dann aus Isopropyläther oder Hexan umkrystallisiert. Man gewann so das  $\Delta^{4,5}$ -Androsten-3-on-17-ol-benzoat (Testosteron-benzoat) in Form derber Nadeln vom Smp. 194—196° korr.

3,077; 3,984 mg Subst. gaben 8,984; 11,59 mg CO<sub>2</sub> und 2,23; 2,92 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	Ber. C 79,54	H 8,22%
	Gef. „ 79,63; 79,39	„ 8,11 8,23%

$\Delta^{4,5}$ -Androsten-3-on-17-ol (Testosteron).

8,5 g Testosteron-benzoat wurden mit 200 cm<sup>3</sup> 2-proz. methylalkoholischer Kalilauge 1½ Stunden unter Rückfluss zum gelinden Sieden erhitzt. Danach goss man in 2 Liter Wasser, dem man 25 cm<sup>3</sup> 10-proz. Schwefelsäure zugesetzt hatte, schüttelte erschöpfend mit Äther aus, wusch die vereinigten Ätherschichten mit Sodalösung und Wasser und dampfte sie im Vakuum ein. Durch Umkrystallisation aus Hexan oder Isopropyläther gewann man so das Testosteron vom Smp. 154,5—155,5°.

Das Testosteron lässt sich in Pyridinlösung mit Benzoylchlorid wieder in das oben beschriebene Benzoat ( $\Delta^{4,5}$ -Androsten-3-on-17-ol-benzoat) überführen.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. *Furter* ausgeführt.

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

<sup>1)</sup> Siehe *R. Schönheimer, J. Biol. Chem.* 110, 461 (1935).