性ホルモンに関する研究 (第 2 報) Cholesterin から *trans*-Dehydro-androsteron の製法

福 田 俊 治 (高知女子大学栄養化学研究室)

昭和 28 年 11 月 16 日 受 理

Studien über Sexualhormone. 2. Mitteilung. Die Darstellung des
trans-Dehydro-androsterons aus Cholesterin.

von Shunji FUKUDA (Aus dem Nahrung-Chemisches
Laboratorium, Kochi Weiblichen Hochschule)

緒 言

trans-Dehydro-androsteron はホルモン合成の出発物となるから之が製法はホルモン生産上極めて重要な意義がある。而して Cholesterin から *trans*-Dehydro-androsteron の製法については 1935 年に SCHOELLER⁽¹⁾, RUZICKA⁽²⁾, WALLIS⁽³⁾, BUTENANDT⁽⁴⁾ 等により報告された。これらの方法は Cholesterin の側鎖を CrO₃ の如き強酸化剤で切断して Keton とするのであるが、収量は何れも少く 1% (WALLIS 法) 乃至 2.8% (BUTENANDT 法) である。然かもこれらの方法によれば一定した収量が得られない。その後 KIPRIANOV⁽⁵⁾ は BUTENANDT 法に於ける酸化剤 CrO₃ を NH₄VO₃ に変えることにより高収量 (理論値の 4%) を得たと報告しているが、その詳細なる実験法については文献入手が困難であるので知ることが出来ない。著者は 17 α -Methyl-3-keto-5,17-dioxy-androstan 合成の前提として Cholesterin から *trans*-Dehydro-androsteron を製するに際し、CrO₃ 酸化を試み BUTENANDT 法の CrO₃ と H₂SO₄ 滴下とを同時に行う酸化法を変えて、CrO₃ 注加と H₂SO₄ 滴下とを別々に 2 段に行うことにより、BUTENANDT 法以上の収量を短時間に然かも比較的確実に得ることが出来、尙又抽出溶媒エーテルを四塩化炭素に変えることにより酸化終了後の抽出操作を極めて簡易化することが出来たので、ここに報告する。先ず Cholesterin と無水酢酸とから Cholesterinacetat を製し、これを少量の四塩化炭素に溶かした後ブロムを作用せしめて Dibromcholesterinacetat の結晶を得る。この Dibromcholesterinacetat を氷酢酸中に懸濁状態となし、之に CrO₃ の氷酢酸溶液を 30° 以下の低温で短時間に全量を注加する。次いで液温を 60° に上げ少量の H₂SO₄ と氷酢酸との混液を攪拌しながら 30 分間に滴下し、更に反応液の色相を注視しつつ酸化を継続せしめ、適度の色相に至つてメタノールを加えて酸化を終らしめる。之に要する時間は 1.5 時間である。この場合 BUTENANDT 法では 3~4 時間を要し、WALLIS, FERNHOLZ 法では 10 時間内外の長時間を要しているのに比すれば甚だしく反応時間の短縮である。著者はこのように予め CrO₃ を比較的低温で一度に注加したのは *trans*-Dehydro-androsteron 生成反応に於ては種種の中間反応物質^{(2),(3),(4),(6),(7),(8),(9)}、例えば 3 β -Oxy- Δ^5 -cholensäure, 3 β -Oxybisor- Δ^5 -cholensäure, 3 β -Oxy- Δ^5 - α -thio cholensäure, 3 β -Oxy- Δ^5 - α -thiobiliensäure, $\Delta^3,5$ -Androstadiene-7, 17-dion, 3 β , 17-Dioxy- Δ^5 -cholensäure lakton (24 $\rightarrow$ 17) 等を生成するもので、この反応を出来るだけ遅速なく進行させ、尙又早く打ち切つた方が一定の物質を多く得るのに好都合と考えたからである。次いで酸化終了後の反応液を四塩化炭素で強振抽出する。この場合エーテルで抽出するよりも四塩化炭素を使つた方が今後の処理が非常に簡易化され、然かも抽出効果が良好である。従つて多量のエーテルを使つて長時間振盪する代りに、少量の四塩化炭素で短時間の振盪で抽出操作が完了する。次いでこの四塩化炭素抽出液を希苛性アルカリで洗い、更に水で洗つて中性となし、この中性抽出液から四塩化炭素を溜去した残渣を氷酢酸に溶かし、之に亜鉛末を加えて脱ブロムを行う。この脱ブロム法については BUTENANDT⁽¹⁰⁾, FERNHOLZ⁽¹¹⁾, STEIGER⁽¹²⁾, BRETSCHNEIDER⁽¹³⁾, SCHOENHEIMER⁽¹⁴⁾, JULIAN⁽¹⁵⁾、等の研究がある。著者はこれらに従つて種種の脱ブロム法を試み次の通りの結果を得た。(a) Chromous chloride⁽¹⁵⁾ を中性エキスのアセトン溶液に加えて脱ブロムすると *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazone の収量が一定せず、時には減収の場合がある。(b) アルミニウム アマルガムを作り直ちに中性エキスのアセトン溶液に加えて 30° で 20~30 分間還元すると、一般に *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazone の収量は 1.5~2 倍位増加するが、その結晶は着色し融点が低くなる欠点がある。(c) 亜鉛を硫酸銅溶液で処理して亜鉛の銅鍍金を作り、之を中性エキスの酢酸溶液を流水で冷しな

がら、これに亜鉛末を極く少量宛添加し、最後に煮沸水浴上で 10 分間加温した方が好結果を得る。このようにして脱ブロムした反応液を水でうすめて四塩化炭素抽出を行い、その抽出液を中性となしたる後、四塩化炭素を溜去すれば茶褐色樹脂状の中性物質を得る。之をエタノールに溶かし Semicarbazidacetat を作用せしめれば *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon を白色結晶として得る。この場合 BUTENANDT 法によれば Dibromcholesterinacetat 15 g に対し *trans*-Dehydroandrosteronacetat semicarbazon の収量は 354 mg (m. p. 260~262°) であるが、本法によれば 400~620 mg. 平均 510 mg. (m. p. 260~263°) であつて、かなりの増収である。この *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon を硫酸で分解し、更にメタノール性苛性カリで加水分解して *trans*-Dehydro-androsteron とする。この *trans*-Dehydro-androsteron の収量は回収 Cholesterinacetat を考慮に入れば BUTENANDT 法の場合約 2.8% であるが、著者の方法によれば約 4% でかなりの増収である。尙又反応時間並に合成経費を著しく節減することが出来る。本反応式を示せば次の通りである。

(I) Cholesterin

(II) Cholesterinacetat

(III) Dibromcholesterinacetat

(IV) Dibrom-*trans*-Dehydro-androsteron acetat (V) *trans*-Dehydro-androsteronacetat(VI) *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon (VII) *trans*-Dehydro-androsteronacetat (VIII) *trans*-Dehydro-androsteron

実験の部

(1) Cholesterinacetat [II] Cholesterin 30 g と無水酢酸 60 g とを混じ、30 分間煮沸させ、熱時

これを冷水中に劇しく攪拌しながら注加した。収量 32.5 g. m.p. 112~114°.

(2) **Dibromcholesterinacetat [III]** Cholesterinacetat 10 g を四塩化炭素 20 cc に溶かし、之に Brom 0.6 cc を四塩化炭素 10 cc に溶かしたものを攪拌しながら 30 分間に滴下する。この間湯浴の温度を 15° とする。更に 15° で 15 分間攪拌を続けた後、四塩化炭素を溜去して Dibromcholesterinacetat 12.5 g (m.p. 114~116°) を得た。

(3) **trans-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon [VI]** Dibromcholesterinacetat 7.5 g を氷酢酸 150 cc に懸濁し、之に CrO₃ 12.5 g を氷酢酸 30 cc と水 5 cc との溶液として 25° で 20 分間に加え、湯浴の温度を 60° に上げて H₂SO₄ 5 cc と氷酢酸 30 cc との混液を 30 分間に滴下、更に反応液を攪拌しながら 1.5 時間酸化を継続せしめた後、メタノール 40 cc を加えて酸化を中止せしめた。次いで四塩化炭素で 3 回抽出、全抽出液を希苛性アルカリ、次に水で洗つて中性にした後四塩化炭素を溜去した。

その残渣を氷酢酸 12 cc に溶かし之に亜鉛末 4 g を少量宛添加、この際反応熱による温度の上昇を防ぐため反応液を流水で冷しながら極く少量宛亜鉛末を加えてゆく。加え終つて後反応液を煮沸湯浴上で 10 分間加温し、濾過後水でうすめて四塩化炭素で 3 回抽出。全抽出液を希苛性アルカリ、次に水で洗つて中性にする。この中性抽出液から減圧で四塩化炭素を溜去後エタノール 8 cc に溶かし、0.9 g Semicarbazid hydrochlorid と 0.9 g Kalium acetat とから得られた Semicarbazid acetat のエタノール溶液を加え 3 時間煮沸し、反応液を熱時水中に注ぎエーテルと振盪し、不溶の *trans*-Dehydro-androsteron acetat semicarbazon を濾過してエーテルで洗う 収量 255 mg. mp. 260~262°.

上記のように Dibromcholesterinacetat を CrO₃ と H₂SO₄ とで酸化して *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon とする場合 CrO₃ 並に H₂SO₄ の最適使用量を決定するため次の如き実験をした!

(a) Dibromcholesterinacetat 7.5 g に CrO₃ 12.5 g を加え、次いでこれに種種なる量の H₂SO₄ と氷酢酸 30 cc との混液を滴下し、型の如く処理して生成せる *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon の量を測定した結果は Tabelle 1 の通りである。

Tabelle 1. Beziehungen zwischen Ausbeute des *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazons und Gebrauchsmenge der Schwefelsäure bei Oxydation von Dibromcholesterinacetat.

Schwefelsäure in cc	<i>trans</i> -Dehydro-androsteron acetat semicarbazon	
	Ausbeute (in mg)	Zp (°C)
15.0	195	262~263
7.5	235	263~264
5.0	310	262~263
3.5	250	263~264
2.5	200	264~265

Tabelle 2. Beziehungen zwischen Ausbeute des *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazons und Gebrauchsmenge des Chromtrioxyds bei Oxydation von Dibromcholesterinacetat.

Chromtrioxyd in g	<i>trans</i> -Dehydro-androsteronacetat semicarbazon	
	Ausbeute (in mg)	Zp. (°C)
14.0	240	263~264
12.5	310	262~263
10.0	320	256~257

(b) 次に Dibromcholesterin acetat 7.5 g に添加する CrO₃ の量を種々に変え、これに H₂SO₄ 5 cc を氷酢酸 30 cc に混じて滴下し、(a) の場合と同様に処理して生成せる *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon の量を測定せる結果は Tabelle 2 の通りである。

Tabelle 1 及び Tabelle 2 の結果により *trans*-Dehydro-androsteronacetat semicarbazon の収量を最高ならしめるには、Dibromcholesterinacetat 7.5 g に対し CrO₃ 12.5 g と H₂SO₄ 5 cc とを使用すればよいと考えられる。

(4) **trans-Dehydro-androsteron [VIII]** 上記の Semicarbazon 255 mg をエタノール 75 cc と水 15 cc と濃硫酸 10 cc との混液 12.5 cc と 30 分間煮沸し、之を水中に注いだ後エーテルで強振抽出すること 3 回。全抽出液を水で洗つた後エーテルを溜去。その残渣を 5% メタノール性苛性カリ液 12.5 cc と 30 分間煮沸した後熱時氷水中に注加し、直ちにエーテルで 3 回強振抽出する。この抽出液を水で洗つた後エーテルを溜去。残渣を石油エーテルから再結晶して無色細針状の結晶として *trans*-Dehydro-androsteron 115 mg (m.p. 138~141°) を得た。

要 約

17 α -Methyl-3-keto-5, 17-dioxy-androstan 合成の前提として Cholesterin から *trans*-Dehydro-androsteron を製した。而して Cholesterin から *trans*-Dehydro-androsteron を製する場合 BUTENANDT 法の CrO_3 と H_2SO_4 滴下を同時に行う酸化法を変えて CrO_3 酸化と H_2SO_4 滴下とを別別に 2 段に行うことにより、尙又抽出溶媒エーテルを四塩化炭素に変えることにより良好な収量を短時間に得ることが出来ると共に実験操作を非常に簡易化し、且つ合成経費を著しく節減することが出来た。

終りに臨み理学博士中馬操氏の教示に謝意を表し、本研究に御助力を載いた帝國臓器製薬株式会社研究室和田俊洋氏並に高知女子大学平見嘉彦氏に感謝する。

(1) W. SCHOELLER, A. SERINI, u. M. GEHRKE : <i>Naturwiss.</i> , 23, 337 (1935).	(8) J. R. BILLETER and K. MIESCHER : <i>ibid.</i> , 32, 564 (1949).
(2) L. RUZICKA and A. WETTSTEIN : <i>Helv. Chim. Acta.</i> , 18, 986, 1264 (1935).	(9) L. F. FIESER : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 70, 3237 (1948).
(3) E. S. WALLIS and E. FERNHOLZ : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 57, 1379, 1504, 1511, 2012 (1935).	(10) A. BUTENANDT u. U. WESTPHAL : <i>Ber.</i> 67, 2087 (1934).
(4) A. BUTENANDT, H. DANNENBAUM, G. HANISCH u. H. KUDSZUS : <i>Hoppe-Seyler's Z.</i> , 237, 64 (1935).	(11) E. FERNHOLZ : <i>ibid.</i> , 67, 2027 (1934).
(5) G. I. KIPRIANOV and B. E. FRENKEL : <i>C. A.</i> , 34, 3756 (1940).	(12) M. STEIGER and T. REICHSTEIN : <i>Helv. Chim. Acta</i> , 20, 1177 (1937).
(6) P. WIELAND and K. MIESCHER : <i>Helv. Chim. Acta</i> , 31, 211 (1948).	(13) H. Bretschneider u. N. AJTAI : <i>Monatssch.</i> , 74, 57 (1941).
(7) J. R. BILLETER and K. MIESCHER : <i>ibid.</i> , 31, 629 (1948).	(14) R. SCHOENHEIMER : <i>J. Biol. Chem.</i> 110, 461 (1935).
	(15) P. L. JULIAN, W. COLE, A. MAGNANI and E. W. MEYER : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 67, 1728 (1945).

Zusammenfassung

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die chemischen und biologischen Eigenschaften von 17 α -Methyl-3-keto-5, 17-dioxy-androstan wurde das *trans*-Dehydroandrosteron aus Cholesterin bereitet. Dabei zeigte es sich, dass durch die Oxydationsmethode, nach der Behandlung mit Chromtrioxyd die Schwefelsäure in die Reaktionslösung tropfenweise zu geben, und durch die Anwendung von Carbonetrachlorid als Extraktionsmittel das *trans*-Dehydro-androsteron relativ leicht und mit guter Ausbeute synthetisiert werden kann.

夏蜜柑果汁製造に関する基礎的研究 (第 12 報)

ポーログラフによるフラボノイドの定量

野 村 男 次 (山口大学農学部農芸化学研究室)

昭和 28 年 11 月 17 日 受 理

Fundamental Studies on the Manufacture of Natsudaidai Juice. Part 12.

The Polarographic Determinations of Flavonoid.

By Danji NOMURA. (Lab. of Agr. Chem., Fac. of Agr., Yamaguchi Univ. Shimonoseki.)

Flavonoid の polarography による研究は割合少く、僅かに ADKINS⁽¹⁾, ENGELKERMEIR⁽²⁾, CAPKA⁽³⁾, 大島, 菊谷, 梅田⁽⁴⁾氏等のものがあるにすぎない。

著者はオレンジジュースの中に含まれている flavonoid の量を求め、これによつてジュースの稀釈の程度を算出しようと計画、先に diethylenglycol を用いての比色法を吟味した⁽⁵⁾が、定量法として必ずしも完全なものではないので、ここに polarograph 法を応用しての flavonoid の測定を志し、これを実施してみた。オレンジジュース中に存在する flavonoid は naringin と hesperidin である。著者は夏蜜柑果皮より常法⁽⁵⁾によつてこれら flavonoid を取り出し、それら各の polarogram を求めると共に、混合の場合、夏蜜柑試料そのものについ