

und das klare Supernatant in einer Porzellanschale im Wasserbad verdampft. Der Rückstand wird sofort 3mal (3 + 2 + 1 ml) mit 96%igem Äthanol eluiert und das Eluat in einer Epruvette verdampft. Der trockene Rückstand wird in 0,06 ml 70%igem Äthanol unter Erhitzen in siedendem Wasser aufgenommen und zentrifugiert.

B. *Elektrophorese*: 0,03 ml des klaren Extraktes (entspricht 0,5 ml Blutserum) werden in einem 1,5 cm langen Strich in die Mitte des Whatman-3-Papiers (12 × 37 cm) aufgetragen (Abb. 1). Das aufgetragene Muster wird nicht getrocknet.

Das Papier wird mit Puffer (Pyridin-Eisessigsäure-Wasser 10:10:450 ml – pH 4,7) befeuchtet (mit Ausnahme der Stelle mit dem aufgetragenen Muster, um eine überflüssige Zerstreuung des Musters zu vermeiden) und die horizontale Elektrophorese in feuchter Kammer während 2 h durchgeführt.

Auf diese Weise erfolgt die Trennung der Gruppen von Aminosäuren auf am Start bleibende neutrale und auf saure und basische, die zur Anode bzw. zur Kathode wandern. Gleichzeitig wird das biologische Material entsalzt.

²⁴ V. JIRGL, Clin. Chem. 3, 154 (1957).

²⁵ V. JIRGL, Vnitřní lékařství 10, 922 (1956).

C. *Chromatographie*: Nach dem Trocknen werden die Enden des Elektropherogramms auf eine Gesamtlänge von 24 cm abgeschnitten und ein 24 × 40 cm Whatman-3-Papier auf der Nähmaschine angeheftet (Abb. 1).

Zum Schlusse folgt die eindimensionale Entwicklung (senkrecht zur Richtung der Elektrophorese) im System: *n*-Butanol-Eisessigsäure-Wasser 4:1:5. Schon bei einbis zweifachem Entwickeln wird eine gute Auftrennung der Aminosäuren erzielt (Abb. 2 und 3).

V. JIRGL

Institut für Hämatologie und Bluttransfusion, Prag,
28. Juli 1958.

Summary

A simple method for paper-electrochromatography of free aminoacids of blood serum is given. In the first direction of the separation a normal apparatus for paper electrophoresis of serum proteins at low voltage is used. The aminoacids are separated into neutral, acid and basic components according to their mobility in the electric field, and are separated in the second direction by means of the descending technique on a chromatogram sewn to the electropherogram.

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

COGITATIONES

Conformational Control of Bond Migration in the D-Homo Rearrangement of 17-Hydroxy-20-Keto Steroids¹

By N. L. WENDLER, D. TAUB, and R. FIRESTONE

Abstract.—The concept of conformational control of bond migration in the transition state to the D-homo-annulation of 17-hydroxy-20-keto steroids appears to provide a unified rationale for the observed phenomena.

The rearrangement of 17-hydroxy-20-keto steroids by Lewis acids as well as by alkali has been extensively investigated in recent years²; the structures of the D-homo products have been determined but a convincing explanation for the differences in bond migration invoked by reagent as well as by steroid configuration at C-17 has not yet appeared.

On the other hand, TURNER^{2c} has provided an excellent rationale for the hydroxyl configuration in the major isomer arising from these rearrangements, whereby the reagent controls the carbonyl orientation in the rearranging species. Thus, a Lewis acid, through oxygen coordination, brings the oxygen functionality (C=O vs. OH) relatively *cis* with respect to each other, whereas

alkali produces a *trans* alignment of these same functions in virtue of charge-dipole repulsion. The consequent reagent-imposed orientations, therefore, predetermine in their respective instances the α or β orientation of the hydroxyl function in the major product of rearrangement (see formulae below). This concept does not, however, give any clue as to the bond involved in the migratory process itself.

In the rearrangement proper it is to be observed that Lewis-acid catalysis induces 16,17-bond migration in the normal steroid series (17 α -OH) (A), whereas the 13,17-bond is involved in the *iso* series (17 β -OH) (B)³. Electronic considerations would lead to the prediction that the 13,17-bond should have migrated in both instances since, in the transition state of the migratory process, the more highly substituted C-13 position should be better able to participate in the delocalization of the charge deficiency created at C-20 (see structures (2) and (8))⁴.

In the alkaline catalyzed rearrangements, on the other hand, the 13,17-bond appears to migrate in both the normal as well as the *iso* series (see, however, later discussion); notwithstanding that on electronic grounds distribution stabilization of the charge surplus in the transition state of the migratory process should be better accommodated at the position (C-16) of lower group substitution.

It is proposed that the factor controlling the bond migration in the rearrangement of these systems is a conformational one. It will be noted that in any of the rearranging species, depending on which bond migrates, the

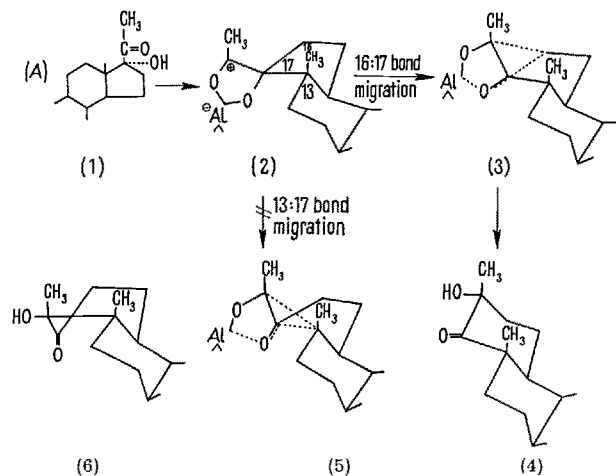
¹ Contribution from Merck & Co., Inc., Rahway, N. J., presented before the North Jersey Section of the American Chemical Society by N. L. WENDLER as part of a lecture entitled *Stereochemical Effects Attending D-Ring Rearrangements in Steroids*, February 3, 1959.

² For leading references see: (a) L. RUZICKA and H. MELDAHL, Helv. chim. Acta 23, 364 (1940). – (b) C. W. SHOPPEE and D. A. PRINS, Helv. chim. Acta 26, 201 (1943). – (c) R. B. TURNER, J. Amer. chem. Soc. 75, 3484 (1953). – (d) D. K. FUKUSHIMA, S. DOBRINER, M. S. HEFFLER, T. H. KRITCHEVSKY, F. HERLING, and G. ROBERTS, J. Amer. chem. Soc. 77, 6585 (1955). – (e) N. L. WENDLER, D. TAUB, S. DOBRINER, and D. K. FUKUSHIMA, J. Amer. chem. Soc. 78, 5027 (1956). – (f) R. B. TURNER, M. PERELMAN, and K. T. PARK, JR., J. Amer. chem. Soc. 79, 1108 (1957).

³ The bond migrations referred to are those involved in producing the *major* product of each reaction which in general corresponds to ca. 65% and 100% respectively of the isomer mixtures.

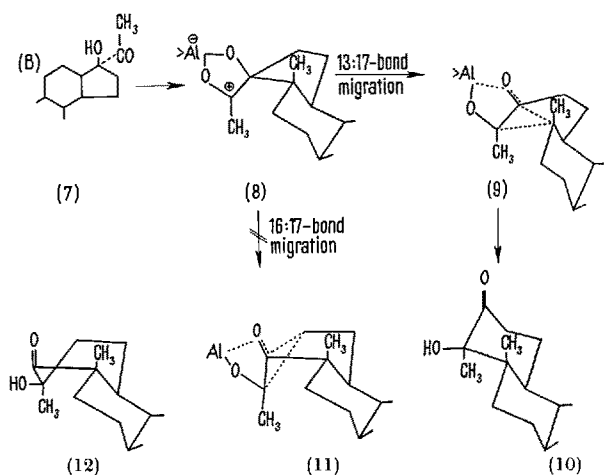
⁴ The possibility that steric factors present in the Lewis acid catalyzed rearrangement in the normal series (17 α -OH) but absent in the *iso* series (17 β -OH) may be responsible for the difference in bond migration in the two series (see FUKUSHIMA *et al.* 2d) is not convincing to us, nor is the inference that the alkaline catalyzed rearrangements conform to electronic expectations.

expansion of the D-ring from a 5- to a 6-membered cycle will, in the transition state, acquire the character of either a boat or a chair conformation. The greater stability associated with the latter state should promote that bond migration wherein the transition state acquires chair-like character and resembles therein the product of that conformation. On the basis of this interpretation, the bond migrations invoked in the various ring expansion rear-



rangements of 17-hydroxy-20-keto steroids and illustrated below, appear to find a unified explanation⁶.

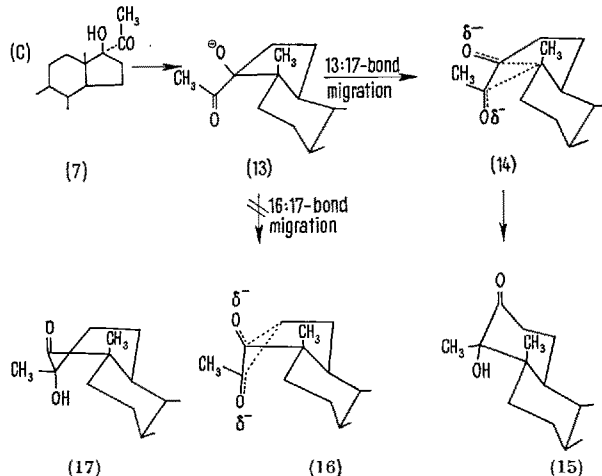
In the Lewis acid catalyzed D-homoannulation of a 17 α -hydroxy-20-keto steroid (A) movement of the 16, 17-bond in the Turner-complex (2) provides a transition state (3) with developing chair character and resembling the observed product of that conformation (4).



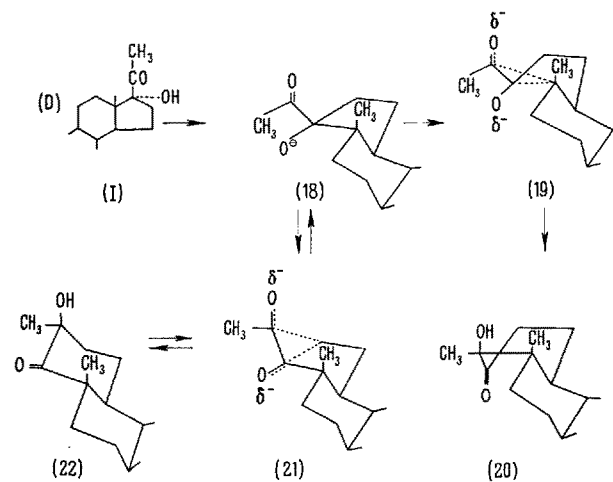
Migration of the 13, 17-bond, on the other hand, would develop the less stable boat conformation in the transition state (5) corresponding to the product (6) of the same geometry. By the same considerations Lewis-acid catalyzed rearrangement of the isomeric 17 β -hydroxy-20-keto system (B) should preferentially proceed with 13, 17-bond migration leading via the chair-like transition state (9) to the observed product of the same conformation (10).

In the alkali-catalyzed D-homoannulation in the *iso*-series (C) it is readily recognized that the Turner-orien-

tational intermediate (13) will achieve a more stable transition state (14) with chair-conformational character resulting from migration of the 13:17-bond to give the observed product (15) of the same geometry; in contrast, the less stable boat transition state (16) would obtain were the 16:17-bond to move. The alkaline catalyzed rearrangement in the normal series (D), on the other hand, would appear to involve bond migration contrary to the



principle of conformational control in as much as the major product formed is (20), resulting from 13:17-bond migration. The anticipated product (22), in fact, is the only one of the four possible isomeric ketols capable of arising from the D-homoannulation reactions, the formation of which has never been observed. This isomer is, however, available synthetically^{2e} and has now been



found to be unstable under the conditions of the alkaline rearrangement wherein it is converted to the isomer (20) as the major product⁶.

The formation of (20) from (22) can take place theoretically by two pathways of which the direct methyl migration $C_{17} \rightarrow C_{17a}$ is excluded by the tracer work of TURNER^{2f}; further, the product from the isomerization (22) $\rightarrow$ (20) contained in addition to (20) as the major component also its 17 α -epimer (15), formed in the same essential ratio as that observed for the isomerization of starting steroid (1) itself. If (22) had been transformed to

⁶ For earlier examples wherein the chair conformation in the transition state of reactions has been invoked to permit a selection of directional course, see: N. L. WENDLER, *Exper.* **9**, 416 (1953). - A. ESCHENMOSER, L. RUZICKA, O. Jeger, and D. ARIGONI, *Helv. chim. Acta* **38**, 1890 (1955).

⁶ Ring D in (20) is formulated in the boat form which would be the immediate geometrical consequence of 13:17-bond migration. It is understood that a subsequent conformational inversion will occur to provide the chair form of (20).

(20) by methyl migration it follows that (20) should have been formed as the exclusive 17a-epimer. It may be concluded therefore that the isomer (22), anticipated from the principle of conformational control of bond movement, represents the kinetic product of rearrangement which is in equilibrium with starting material, wherein the latter subsequently rearranges to the thermodynamic product (20). This conclusion is strengthened by the fact that the major (kinetic) product (15) arising from the *iso*-series by alkaline catalysis^{2 b, d} has now been found to be unstable on prolonged contact with alkali and subsequently isomerizes to (20)⁷.

⁷ These and other findings associated with what is now recognized to constitute an equilibrium relationship among the isomeric D-homo ketols will be reported in detail elsewhere.

THEORIA

Origines de la vie

PAR I. GRUNDLAND*

Le problème de l'origine de la vie et la synthèse première des protéines sont intimement liés et on les confond habituellement, les protéines entrant dans la constitution de tout être vivant.

Le problème de la synthèse des protéines par les organismes a été de tout temps l'objet des plus actives recherches. Il semble que dernièrement un progrès important ait été réalisé dans cette direction. D'après les conceptions actuelles, la synthèse des protéines dans les systèmes vivants serait liée à l'existence des macromolécules de structure chimique complexe représentées par les polymères des acides nucléiques. Il semble concevable cependant que la synthèse des protéines réalisée actuellement par les êtres vivants doit différer notablement de celle qui se produisait au moment où ils ont apparu. On pourrait admettre dans ce cas qu'au cours de la synthèse des protéines l'intervention des acides nucléiques ne fut pas toujours obligatoire et qu'un cycle plus primitif, non dépourvu d'intérêt, remplissait à l'origine ces fonctions.

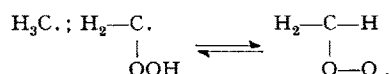
L'atmosphère de la terre, au début de son existence, comportait un mélange de gaz formés par des composés hétéronucléaires – où des éléments à nombre variable de nucléons étaient liés à l'hydrogène issu des protons et neutrons s'échappant de notre planète, au sein de laquelle s'opéraient des équilibres nucléaires instables¹⁻³. Cela dû se passer après qu'un tourbillon en ignition se fut détaché de la masse du présoleil pour former la terre, il y a 4,5–4,6 milliards d'années (KANT-LAPLACE, JEANS, JEFFREYS, FIESIENKOW, HOYLE). La fixation de l'hydrogène sur les éléments en voie de constitution a contribué à la formation des hydrures dans les couches profondes ainsi que dans l'atmosphère de la terre. Des radicaux hydrures MH se retrouvent dans les atmosphères stellaires où leur présence est révélée par l'analyse spectrale de la lumière émise (dans les spectres des bandes de rotation-vibration). Ainsi on a signalé dans les étoiles la présence des radicaux .CH et .NH, .OH, .MgH, .CaH, .BeH₂ et dans les taches solaires. Leur persistance aux hautes températures s'expliquerait par l'abondance de l'hydrogène dans les atmosphères stellaires, ce qui fait reculer la limite de dissociation des hydrures. Dans l'atmosphère de la terre, l'hydrogène

combiné à l'oxygène donnait des molécules d'eau, au carbone – du méthane, à l'azote – de l'ammoniac, au soufre – de l'hydrogène sulfureux; enfin, les composés mixtes ne manquaient pas: par exemple le carbone, l'azote et l'hydrogène formaient le gaz cyanhydrique.

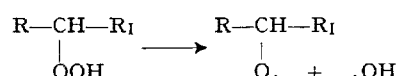
A l'heure actuelle, on peut relever l'existence d'océans de méthane et d'ammoniac dans l'atmosphère des planètes telles que Jupiter, Saturne et Uranus. Sur la terre, on peut déceler les traces de l'atmosphère jadis réductrice de notre planète notamment lors des éruptions volcaniques; le panache des volcans présente dans la vapeur d'eau émise une concentration supérieure en isotope lourd d'hydrogène – le deutère – à celle contenue dans l'eau atmosphérique⁴ – ce qui semble résulter de la dissociation et oxydation des hydrures métalliques entraînés par l'éruption volcanique et provenant des fissures profondes de l'écorce terrestre. Rencontrant l'oxygène atmosphérique, l'hydrogène et le deutère provenant des hydrures métalliques dissociés subiraient une oxydation avec formation de molécules d'eau à concentration supérieure en eau deutériée («lourde»), à celle contenue dans l'eau atmosphérique comme cela a été constaté. On peut considérer ce fait comme indice de ce qu'était l'atmosphère primitive réductrice de la terre qui résultait du nombre des protons émis par la terre, et également comme l'indice d'un déplacement des proportions respectives des isotopes en faveur des éléments lourds. La teneur en deutérium dépassant de beaucoup celle que l'on constate habituellement de certaines sources de pétrole⁵, des gaz naturels tels que le méthane⁶ pourraient fournir le même indice.

Le déplacement de la distribution des isotopes en faveur d'une plus grande fréquence des isotopes lourds s'observe encore dans l'analyse des spectres de quelques étoiles par exemple en ce qui concerne les isotopes ¹²C et ¹³C. Ainsi dans certaines étoiles on a pu constater une proportion de ¹³C/¹²C allant jusqu'à 1/2 alors que sur terre ce rapport n'est que de 1,1/98,9⁷⁻⁹.

La gravitation terrestre ne suffisait pas à maintenir l'hydrogène dans les limites de l'atmosphère terrestre d'où résultait une fuite de ce gaz dans l'espace. En même temps l'atmosphère terrestre subissait l'action du rayonnement solaire, comme d'ailleurs de celui qui provenait de la terre même. La perte d'hydrogène et l'action du rayonnement solaire allant jusqu'à l'ultraviolet lointain déterminaient une oxydation constante de l'atmosphère compensée par les faisceaux d'hydrogène (protons) issus de la terre. Avec le temps, le rayonnement de la terre diminuait et l'oxydation de l'atmosphère ne fut plus compensée par une réduction équivalente. C'est alors que les molécules d'eau, dissociées par des effets photochimiques, déterminaient des réactions d'oxydation par l'entremise des radicaux libres formés .OH, .O₂H ou des hydroperoxydes H₂O₂. Il en résultait l'apparition des radicaux libres organiques, et aux dépens du méthane par exemple:



ainsi que des hydroperoxydes tels:



* Varsovie.

¹ H. C. UREY, Proc. Natl. Acad. Sci. US 38, 351 (1952). – A. DAUVILLIER, *Origines de la vie* (Masson 1958).

² A. I. OPARIN, *The Origin of Life* (Dover Publ. New York 1953).

³ J. D. BERNAL, *The Physical Basis of Life* (Rutledge, London 1951).

⁴ K. RANKAMA, *Isotope geology* (Pergamon Press, 1954).

⁵ N. S. FILIPOVA, J. chem. Phys. 3, 316 (1935).

⁶ I. FRIEDMAN, Geochim. cosmochim. Acta 4, 89 (1953).

⁷ G. A. SZAJN et W. F. GAZE, Usp. Fiz. Nauk 43, 1 (1951).

⁸ A. Mc KELLAR, Publ. Astr. Soc. Pacific 59, 186 (1947).

⁹ G. HERZBERG et J. G. PHILLIPS, Astrophys. J. 108, 163 (1948).