

372. Adolf Butenandt und Luigi Mamoli: Über *allo*-Pregnanol-(3)-on-(20), einen Begleitstoff des Corpus-luteum-Hormons.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr.]
(Eingegangen am 23. Oktober 1934.)

Aus Gelbkörper-Extrakten wurde außer dem für die Vorbereitung und Erhaltung der Schwangerschaft notwendigen Corpus-luteum-Hormon¹⁾, einem ungesättigten Diketon $C_{21}H_{30}O_2$ ²⁾ der weitgehend gesicherten³⁾ Strukturformel (I), ein physiologisch unwirksames Oxy-keton der Zusammensetzung $C_{21}H_{34}O_2$ ²⁾ isoliert. Dieser neue Keto-alkohol wurde durch folgende Eigenschaften näher charakterisiert⁴⁾: er zeigt einen Schmelzpunkt von 194^0 , ist gesättigt, liefert ein bei 144.5^0 schmelzendes Acetat und ein Oxim, das bei 224^0 schmilzt.

Wir haben uns mit seiner Konstitutions-Ermittlung befaßt, weil sich aus der Analyse von Begleitstoffen wichtige Hinweise auf den Bau der Hormone, sowie auf ihre Entstehung oder Abwandlung im Organismus ergeben können⁵⁾. In vorliegendem Falle war die Annahme naheliegend⁶⁾, daß das Oxy-keton $C_{21}H_{34}O_2$ in Beziehung steht zum Pregnandiol, $C_{21}H_{36}O_2$, dessen Strukturformel (II) gesichert ist⁶⁾. Wir haben zunächst geglaubt, daß das Oxy-keton aus dem Pregnandiol durch Dehydrierung einer der beiden sekundären Alkoholgruppen hervorgeht, jedoch konnten wir an anderer Stelle¹⁾ bereits mitteilen, daß diese einfache Beziehung zwischen beiden Stoffen nicht besteht, denn sie liefern bei vorsichtiger Oxydation zwei miteinander nicht identische Diketone $C_{21}H_{32}O_2$.

Nach diesem Ergebnis war die Annahme am wahrscheinlichsten, daß das Pregnandiol und unser neues Oxy-keton verschiedenen räumlichen Bau besitzen und Vertreter der beiden im Sterin-Gebiet verbreiteten sterischen Reihen darstellen, die sich durch die Ringverknüpfung an C_5 unterscheiden. Für Pregnandiol (II) ist die Zugehörigkeit zur Koprosterin-(Cholansäure)-Reihe bekannt, in der eine *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe A und B anzunehmen ist; wenn unsere Vorstellungen richtig waren, so mußte der Begleitstoff des Corpus-luteum-Hormons der Dihydro-cholesterin-(*allo*-Cholansäure)-Reihe angehören, in der die Verknüpfung der Ringe A und B in *trans*-Stellung erfolgt ist. Wir hielten es danach für das Wahrscheinlichste, daß ihm die Konstitution eines *allo*-Pregnanolons-(20) der Formel VIII zukommt.

Um diese Vorstellung zu prüfen, haben wir uns bemüht, das *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) aus geeignetem natürlichen Ausgangsmaterial darzustellen. Wir erreichten dieses Ziel durch einen Abbau des Stigmasterins (III), der in völliger Analogie zu den kürzlich³⁾ beschriebenen Versuchen zur Darstellung des Corpus-luteum-Hormons (I) durchgeführt wurde. Auch im vorliegenden Fall benutzten wir die nach einer von E. Fernholz⁷⁾ angege-

1) Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934].

2) Butenandt u. Westphal, Verh. Ges. inner. Medizin, Wiesbaden 11. 4. 34; B. **67**, 1440 [1934]; dies. u. Hohlweg, Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934]; Slotta, Ruschig u. Fels, B. **67**, 1270, 1624 [1934]; W. M. Allen u. O. Wintersteiner, Science **80**, 190 [1934]; M. Hartmann u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **17**, 878, 1365 [1934].

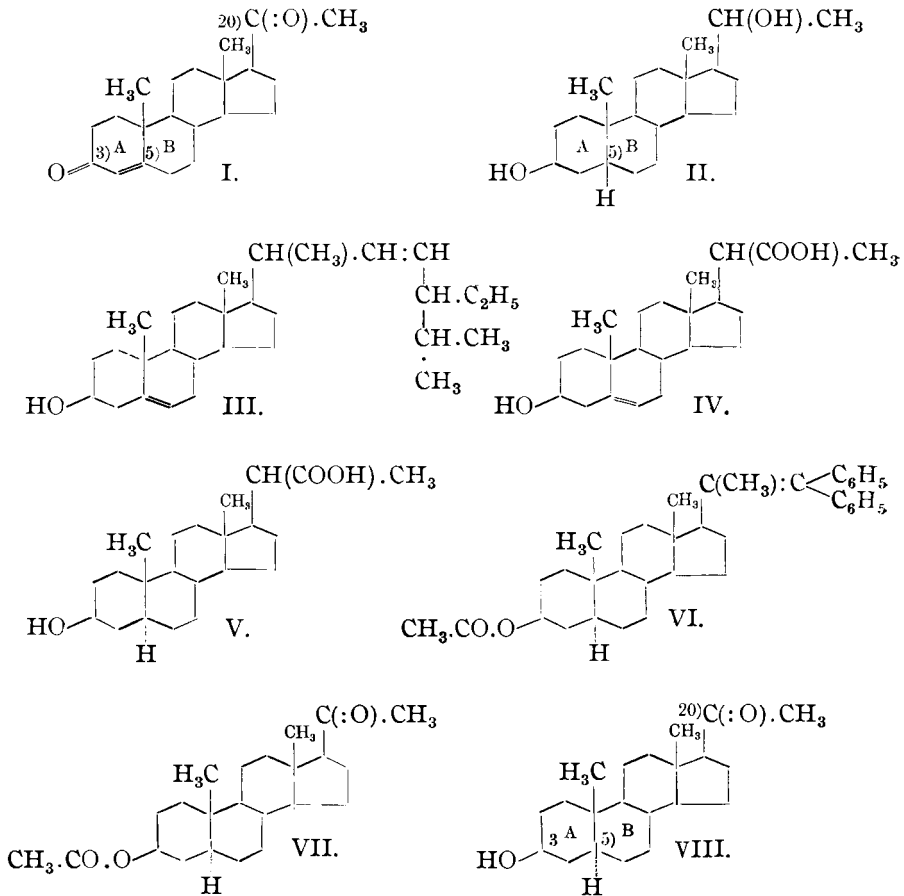
3) Butenandt, Westphal u. Cobler, B. **67**, 1611 [1934]; Angew. Chem. **42**, 725 [1934].

4) Butenandt u. Westphal, B. **67**, 1440 [1934]; Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934].

5) Forsch. u. Fortschritte **1934**, Nr. 20/22; Wiener Klin. Wchschr. **1934**, Nr. 29/30.

6) B. **63**, 659 [1930], **64**, 2529 [1931]. 7) A. **507**, 128 [1933].

benen Methodik aus Stigmasterin (III) leicht darstellbare Oxy-bisnor-cholensäure (IV) als Ausgangsmaterial für den weiteren Abbau. Die katalytische Hydrierung dieser Säure lieferte uns die bereits von Fernholz⁷⁾ beschriebene



3-Oxy-bisnor-*allo*-cholensäure (V), von der wir durch Umsatz mit Diazo-methan den bisher unbekanntem Methylester (Schmp. 152.5°) bereiteten.

Wir ließen diesen Methylester mit überschüssigem Phenyl-magnesiumbromid reagieren; das zu erwartende tertiäre Carbinol spaltet größtenteils schon unter den Bedingungen des Umsatzes Wasser ab. Durch mehrstündiges Kochen mit Eisessig wurde die Wasser-Abspaltung vollendet und gleichzeitig eine Acetylierung der Hydroxylgruppe an Ring A erzielt. Wir erhielten auf diesem Wege in guter Ausbeute das zwei Phenylgruppen tragende, einfach ungesättigte Acetat VI, das bei 238.5° (unkorr.) schmilzt, sich beim Erhitzen mit Essigsäure-anhydrid nicht verändert und im Hochvakuum unzersetzt destilliert. Eine Probe des Acetates VI wurde durch Behandlung mit Alkali zu dem zugehörigen Alkohol verseift, dessen Schmelz-

punkt wir zu 163.5° ermittelten; durch Kochen mit Essigsäure-anhydrid ließ sich der Alkohol wieder in das gleiche Acetat zurückverwandeln.

Das Acetat VI wurde durch Behandlung mit Ozon in Benzophenon und das Acetat des *allo*-Pregnanolons-(20) (VII) zerlegt, das durch fraktionierte Sublimation im Hochvakuum und durch Umkrystallisieren aus Methanol in Blättchen vom Schmp. 144.5° (unkorr.) erhalten wurde. Durch Verseifung des Acetates stellten wir das *allo*-Pregnanolon-(20), C₂₁H₃₄O₂ (VIII), dar, das aus verd. Alkohol umkrystallisiert wurde; es schmilzt bei 194.5° (unkorr.) und liefert ein bei 224° schmelzendes Oxim.

Das so dargestellte *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) zeigt in seinen Eigenschaften völlige Übereinstimmung mit dem Begleitstoff des Corpus-luteum-Hormons gleicher Zusammensetzung; dasselbe gilt für die Derivate der beiden Verbindungen. Alle Misch-Schmelzpunkts-Proben ergaben keine Depression. Nach diesem Befunde ist es nicht mehr zweifelhaft, daß im Gelbkörper *allo*-Pregnanolon-(20) neben dem physiologisch aktiven Hormon vorhanden ist; damit ist einer der Inhaltsstoffe dieser Drüse in seiner Konstitution völlig geklärt worden.

Wir glauben, daß dieses Ergebnis zugleich eine weitere wichtige Stütze für die Konstitution des Corpus-luteum-Hormons (I) bildet. Es liegt die Annahme nahe, daß das *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) und das Pregnandiol (II) Hydrierungsprodukte des Corpus-luteum-Hormons oder seiner Vorstufen darstellen. Die — sehr wahrscheinliche — Lage der Doppelbindung im Corpus-luteum-Hormon (I) an der Ringverknüpfungsstelle C₅ schließt für diesen Wirkstoff naturgemäß eine *cis-trans*-Isomerie in der Verknüpfung der Ringe A und B aus⁸⁾, sie läßt andererseits das Auftreten von zwei stereoisomeren Hydrierungsprodukten bei der Absättigung der Doppelbindung voraussehen. Ob das dem *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) entsprechende *allo*-Pregnandiol und das dem Pregnandiol entsprechende Pregnanolon-(20) sich ebenfalls im Organismus finden, wollen wir prüfen.

Über Umwandlungsprodukte des nunmehr leicht zugänglichen *allo*-Pregnanolons berichten wir in Kürze.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft und der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin möchten wir für die Unterstützung unserer Arbeiten danken. Der eine von uns (L. Mamoli) dankt dem Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale Giuliana Ronzoni, Mailand, für ein Stipendium.

Beschreibung der Versuche.

Hydrierung der 3-Oxy-bisnor-cholensäure.

1.3 g der Säure⁷⁾ wurden in 300 ccm Eisessig suspendiert und unter Verwendung von Platin-Katalysator hydriert. Nach Beendigung der Wasserstoff-Aufnahme lag eine klare Lösung vor. Das Hydrierungsprodukt, die 3-Oxy-bisnor-*allo*-cholensäure⁷⁾, wurde aus Eisessig umkrystallisiert. Schmp. 167°; die reine Säure schmilzt bei 170°. Ausbeute 1.085 g.

⁸⁾ Aus diesem Grunde kann auch der Unterschied zwischen den beiden aufgefundenen Corpus-luteum-Hormon-Krystallisaten gleicher Zusammensetzung (Schmp. 128.5° und 120—121°) (B. 67, 1270, 1440, 1624 [1934]), nicht durch die Verknüpfung der Ringe A und B in *cis*- bzw. *trans*-Stellung erklärt werden, wie es von K. H. Slotta und Mitarb. wiederholt diskutiert wurde (B. 67, 1625 [1934], Helv. chim. Acta 17, 1361 [1934]).

Methylester: 1.085 g der hydrierten Säure wurden mit einer ätherischen Lösung von Diazo-methan unter Zusatz von etwas Methanol verestert. Der Methylester wurde aus Methanol in prismen-förmigen Krystallen vom Schmp. 152.5° erhalten. Ausbeute 1.060 g.

4.715 mg Sbst.: 13.170 mg CO₂, 4.390 mg H₂O.

C₂₃H₃₈O₃. Ber. C 76.18, H 10.57.

Gef. ,, 76.20, ,, 10.42.

Umsatz des 3-Oxy-bisnor-*allo*-cholansäure-methylesters mit Phenyl-magnesiumbromid.

Zu 1.625 g Magnesium und 10.5 g Brom-benzol in 70 ccm Äther wurden 1.040 g 3-Oxy-bisnor-*allo*-cholansäure-methylester in 190 ccm Äther hinzugegeben. Nach dem Zusatz von 50 ccm Benzol wurde das Reaktionsgemisch 2 Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt; anschließend wurde der Äther abdestilliert, die restliche Benzol-Lösung eine weitere Stunde zum Sieden erhitzt; nach dem Verdampfen des Benzols wurde der Rückstand 6 Stdn. auf dem siedenden Wasserbade erwärmt. Das Reaktionsgut wurde mit Eiswasser zersetzt, mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach dem Abdampfen der ätherischen Lösung wurde zur Entfernung von gebildetem Diphenyl mit Wasserdampf destilliert und der nicht-flüchtige Anteil mit 8-proz. methylalkohol. Kalilauge 9 Stdn. erwärmt. Die nach der Verseifung verbliebenen Neutral-anteile wurden nochmals mit Wasserdampf behandelt und nach dem Trocknen 3 1/2 Stdn. in Eisessig-Lösung zum Sieden erhitzt. Nach dem Konzentrieren der Eisessig-Lösung krystallisierten 1.03 g eines Produktes, das nach mehrfachem Umlösen aus Eisessig einen Schmp. von 238.5° zeigte und sich beim Kochen mit Essigsäure-anhydrid und bei der Destillation im Hochvakuum nicht veränderte. Es liegt das Acetat VI vor.

4.588 mg Sbst.: 14.215 mg CO₂, 3.770 mg H₂O.

C₃₆H₄₆O₂. Ber. C 84.64, H 9.08.

Gef. ,, 84.50, ,, 9.19.

Die mit einer Probe durchgeführte Verseifung des Acetates führte zu dem bei 163.5° schmelzendem Alkohol, der sich durch Behandlung mit Essigsäure-anhydrid reacctylieren ließ zum Acetat vom Schmp. 238.5°.

Abbau zum *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII).

350 mg des Acetates C₃₆H₄₆O₂ (VI) wurden in 20 ccm Chloroform gelöst, in 2 Anteilen je 10' unter Eis-Kühlung mit Ozon (7 mg O₃ pro Minute) behandelt. Die vereinigten Oxydations-Lösungen wurden mit 7 ccm Wasser 1/2 Stde. zum Sieden erhitzt. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel wurde der trockne Rückstand im Hochvakuum (0.001 mg Hg) fraktioniert destilliert. Die zwischen 95—120° übergelenden krystallinen Anteile (160 mg) wurden nach dem Kochen mit Tierkohle aus Methanol umkrystallisiert. Schmp. 144.5° (unkorr.). Es liegt das Acetat des *allo*-Pregnanol-(3)-ons-(20) vor (VII); es gibt mit dem Acetat des Oxy-ketons C₂₁H₃₄O₂ aus Corpora lutea keine Depression.

5.251 mg Sbst.: 14.670 mg CO₂, 4.680 mg H₂O.

C₂₃H₃₆O₃. Ber. C 76.61, H 10.07.

Gef. ,, 76.21, ,, 9.97.

Die Verseifung des Acetates (VII) geschah durch 1-stdg. Erhitzen von 72 mg in 13 ccm 10-proz. methylalkohol. Kalilauge. Das nach dem Ansäuern durch Wasser-Zusatz ausgefällte *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) wurde aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 50 mg, Schmp. 194.5°. Die Mischprobe mit dem Oxy-keton $C_{21}H_{34}O_2$ aus Corpora lutea ergab keine Depression.

4.490 mg Sbst.: 12.925 mg CO_2 , 4.390 mg H_2O .

$C_{21}H_{34}O_2$. Ber. C 79.18, H 10.77.

Gef. „, 78.50, „, 10.85.

Oxim: Aus 34 mg *allo*-Pregnanol-(3)-on-(20) wurden durch 3-stdg. Erwärmen mit überschüssigem Hydroxylamin-Acetat in alkohol. Lösung 28 mg eines Oxims bereitet, das nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 224—225° schmolz. Die Mischprobe mit dem Oxim aus dem Oxy-keton $C_{21}H_{34}O_2$ aus Gelbkörpern ergab keine Depression.

2.935 mg Sbst.: 0.109 ccm N (24°, 760 mm).

$C_{21}H_{35}O_2N$. Ber. N 4.20. Gef. N 4.26.

373. Adolf Butenandt und Josef Schmidt: Überführung des Pregnan-diols in Corpus-luteum-Hormon.

[Aus d. Institut für Organ. Chemie d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr.]

(Eingegangen am 26. Oktober 1934.)

Wir haben eine einfache Methode gefunden, nach der man das Pregnan-diol¹⁾ (I) in Corpus-luteum-Hormon²⁾ überführen kann, dessen Konstitution (II) durch die Untersuchungen von Butenandt, Westphal und Cobler³⁾, sowie Butenandt und Mamoli⁴⁾ weitgehend gesichert wurde.

Im gleichen Heft dieser Zeitschrift⁵⁾ haben wir über die Darstellung des Pregnanolons-(3) (III) aus Pregnan-diol berichtet. Behandelt man dieses Oxy-keton (III) mit 1 Mol Brom in Eisessig-Lösung, so tritt neben der Keto-gruppe ein Brom-Atom in das Molekül ein. Dem bei 185° unt. Zers. schmelzenden gebromten Keto-alkohol kommt mit größter Wahrscheinlichkeit die Formel (IV) zu; er geht durch Behandlung mit Chromsäure in der Kälte in das gebromte Diketon (V) über, das aus verd. Aceton in Nadeln vom Schmp. 186° krystallisiert. Dasselbe Produkt (V) wird bemerkenswerterweise auch erhalten, wenn man direkt vom leicht zugänglichen Pregnan-dion¹⁾ (VI) ausgeht und dieses vorsichtig bromiert. Durch diese Reaktionsfolge ist das gebromte Diketon (V) ein leicht zugänglicher Stoff geworden.

Erhitzt man das Diketon (V) mit wasser-freiem Pyridin zum Sieden, so tritt in glatter Reaktion die Abspaltung von Bromwasserstoff ein, und es entsteht das ungesättigte Diketon $C_{21}H_{30}O_2$ der Formel (II).

¹⁾ B. **63**, 659 [1930], **64**, 2529 [1931].

²⁾ Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934].

³⁾ B. **67**, 1611 [1934].

⁴⁾ B. **67**, 1897 [1934].

⁵⁾ B. **67**, 1893 [1934].